




TESIS DOCTORAL

**“VIABILIDAD DE UN PROCESO PARA LA
ELIMINACIÓN CONJUNTA DE H_2S Y NH_3
CONTENIDO EN EFLUENTES GASEOSOS”**

A photograph of a laboratory setup. In the foreground, there is a vertical glass column wrapped in aluminum foil, mounted on a metal frame. Various tubes and wires are connected to it. In the background, there are other laboratory equipment, including a flask on a stand and a container labeled 'NH3'.

FACULTAD DE CIENCIAS
**Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos
y Tecnologías del Medio Ambiente**

Martín Ramírez Muñoz
Junio 2007



**“VIABILIDAD DE UN PROCESO PARA LA
ELIMINACIÓN CONJUNTA DE H_2S Y NH_3
CONTENIDO EN EFLUENTES GASEOSOS”**

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

FACULTAD DE CIENCIAS

**Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos
y Tecnologías del Medio Ambiente**

Martín Ramírez Muñoz

Junio 2007

“VIABILIDAD DE UN PROCESO PARA LA ELIMINACIÓN CONJUNTA DE H₂S Y NH₃ CONTENIDO EN EFLUENTES GASEOSOS”

Memoria presentada por el Ingeniero Químico Martín Ramírez Muñoz para optar al grado de
Doctor por la Universidad de Cádiz

Fdo.: Martín Ramírez Muñoz

Puerto Real, 11 junio de 2007

La presente Tesis ha sido co-dirigida por los Doctores D. Domingo Cantero Moreno, Catedrático de Ingeniería Química y D. José Manuel Gómez Montes de Oca, Profesor Titular de Ingeniería Química de la Universidad de Cádiz, y cumple los requisitos exigidos por la legislación vigente.

Fdo.: Dr. D. Domingo Cantero Moreno

Fdo.: Dr. D. José Manuel Gómez Montes
de Oca

Fdo.: Dr. D. José María Quiroga Alonso

Director del Dpto. de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio
Ambiente
Universidad de Cádiz

RESUMEN

La generación de olores está considerada como una forma específica de contaminación atmosférica. Los tipos de contaminantes que provocan problemas de olores y que emiten las industrias son de índole muy diverso, tratándose fundamentalmente de compuestos volátiles ya sean orgánicos o inorgánicos.

Uno de los compuestos más comunes y que mayores problemas causa es el ácido sulfhídrico, por tratarse de un gas corrosivo, olor desagradable a huevos podridos y con un límite de detección excesivamente bajo. La principal fuente de emisión de H_2S son las plantas de tratamiento de aguas residuales (zonas de anerobiosis, estaciones de bombeo, colectores, digestores de lodos, etc. El ácido sulfhídrico va acompañado de otros compuestos fundamentalmente órgano sulfurados y amoniacos.

En la presente tesis se ha estudiado la eliminación de ácido sulfhídrico y amoniacos mediante una tecnología biológica ya que para el rango de caudales y concentraciones de este tipo de efluentes, son las más rentables además de tratarse de unas tecnologías respetuosas con el medio ambiente. Concretamente se han utilizado dos biofiltros de escurrimiento empaquetados con espuma de poliuretano. La espuma de poliuretano es un soporte inerte y con unas propiedades muy buenas para el tipo de bioreactor seleccionado como son; alta porosidad, alta superficie específica e inerte, además de tratarse de un soporte muy barato, factor importante a la hora de un escalamiento. Como microorganismos se han seleccionado dos cepas una azufre oxidante (*Thiobacillus thioparus* ATCC 23654) que utiliza como sustrato el ácido sulfhídrico oxidándolo a azufre elemental y/o sulfato, y otra bacteria amonio oxidantes (*Nitrosomonas europaea* ATCC 19718) que oxida el amoniacos a nitrito.

Se ha estudiado la eliminación por separado de mezclas aire/ H_2S y aire/ NH_3 y a continuación la eliminación conjunta de ambos compuestos en aire.

La capacidad de eliminación máxima alcanzada fue de $43,9 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ para una carga de alimentación de $55,0 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (79,8%) y la capacidad máxima crítica fue de $14,9 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (eliminación mayor del 99,8%), para un tiempo de residencia de 150 segundos. El porcentaje

de eliminación fue mayor del 99% para tiempos de residencia del gas de 90 segundos y cargas de hasta 11 gS m⁻³h⁻¹. En cuanto a la eliminación de amoníaco se pueden conseguir porcentajes de eliminación del 100% si se mantiene la concentración de nitrito del medio de recirculación por debajo de 100 mM para cargas de hasta 270 gN m⁻³h⁻¹ con tiempos de residencia del gas de tan solo 11 segundos. La alta capacidad de eliminación de amoníaco alcanzada supera con gran amplitud la eliminación alcanzada por otros autores, por lo que se podría emplear el biofiltro con *Nitrosomonas europaea* para tratar efluentes con altas concentraciones de amoníaco como los que se generan en plantas de compostaje o fertilizantes.

El estudio de eliminación conjunta logró porcentajes de eliminación del 100% y del 99% para un efluente con concentraciones de hasta 238 ppmv de NH₃ y 129 ppmv de H₂S, con tiempo de residencia del gas de 60 segundos. Este rango es lo suficientemente amplio para tratar problemas de olores en un amplio rango de efluentes industriales.

AGRADECIMIENTOS

No puede estar completa esta Tesis sin nombrar a aquellos que han hecho posible la realización de este Trabajo. Mi agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra manera me han ayudado en este camino.

❖ *A mis Directores de Tesis. A José Manuel Gómez sin el cual nunca me hubiese planteando hacer el Doctorado y por confiar en mí desde el primer día, y a Domingo Cantero por su amistad, apoyo y entusiasmo depositado en este trabajo. Muchas gracias a ambos por ser más que unos Directores de Tesis y por su predisposición permanente en aclarar mis dudas.*

❖ *A todos los miembros del Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente. Especialmente a:*

Nela y Belí, por ayudarme siempre que lo he necesitado y por su amistad.

Juanito por las innumerables veces que me ha echado un cable durante la realización de esta Tesis, además de ser un gran amigo.

Alvaro Tenorio, compañero de carrera, de doctorado y de piso, por la amistad que nos une.

Juana Rodríguez, muchas gracias por tu apoyo cuando estaba bajo de animo y por aguantarme durante la escritura de la Tesis.

Ana Belen Díaz, Belen, Cristina, y Violeta, gracias por los buenos ratos que hemos pasado y por estar siempre ahí para escucharme y ayudarme.

Mis compañeros de despacho Ana Roldán, Gema, Jezabel y Nacho por ayudarme siempre que lo he necesitado.

❖ *Al Ministerio de Ciencia y Tecnología por financiar el proyecto PPQ2002-0017 el cuál me ha permitido realizar la presente Tesis.*

❖ *A todos los miembros de la Escuela de Ingeniería Bioquímica de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Especialmente a:*

Germán Aroca, por dirigir mi trabajo y ampliar mis conocimientos en el campo de la Biofiltración, además de brindarme su amistad.

Julio Rojos y Juan Bastidas, compañeros de batalla que hicieron que la estancia en Chile fuera toda una aventura y ganase dos amigos para siempre.

A Paula Tello y sus padres, Rebeca y Juan, siempre estaré en deuda con ellos por su ayuda y amistad prestada a la llegada a un País desconocido, muchas gracias.

Mis compañeros: Alejandra, Araceli, Carlos, Carmen, Carolina, Catí, Eduardo, Gerardo, Johnny, Judith, Liza, Lorena, Osiel, Silvana y Zaida

❖ *Al Centro de Biotecnología de la Universidad de Concepción (Chile). Especialmente a:*

Homero Urrutia, por acogerme en su grupo y poner a mi disposición sus recursos humanos y materiales que me han permitido iniciarme en el campo de la biología molecular.

Nathaly Ruiz-Tagle por dedicarme la mayor parte de su tiempo y conocimientos durante mi corta estancia y por ser una gran amiga.

Cecilia, Diego, Emky y Paz compañeros del Laboratorio gracias por su amistad y ayuda incondicional.

❖ *A Rosa Reguera sin la cual esta Tesis sería más complicada de leer. Muchas gracias.*

❖ *A mis amigos de Conil*

❖ *A mi hermano Chano y a su esposa Mariluz por su ánimo y apoyo.*

❖ *A mis padres quienes me transmitieron la ética y el rigor que guían mi transitar por la vida*

*“Lo que sabemos es una gota de agua;
lo que ignoramos es el océano.”*

“Isaac Newton”

A mis padres

ÍNDICE

RESUMEN	I
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE TABLAS	XV
LISTA DE FIGURAS.....	XIX
ACRÓNIMOS.....	XXVII
NOMENCLATURA	XXIX
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1. TECNOLOGÍAS PARA EL TRATAMIENTO DE GASES	5
2.1.1. Tecnologías Físico-químicas	6
2.1.1.1. <i>Incineración</i>	6
2.1.1.2. <i>Adsorción</i>	6
2.1.1.3. <i>Absorción</i>	7
2.1.1.4. <i>Condensación</i>	8
2.1.1.5. <i>Procesos con membranas</i>	8
2.1.2. Tecnologías Biológicas.....	8
2.1.2.1. <i>Biolavadores (Bioscrubbers)</i>	10
2.1.2.2. <i>Biofiltros</i>	11

2.1.2.3.	<i>Biofiltros de escurrimiento (Biotrickling filter)</i>	11
2.2.	SULFURO DE HIDRÓGENO	12
2.2.1.	Propiedades.....	12
2.2.2.	Fuentes	14
2.2.3.	Usos.....	16
2.2.4.	Efectos sobre la salud.....	16
2.3.	ELIMINACIÓN DE H₂S MEDIANTE PROCESOS FÍSICO-QUÍMICOS	17
2.3.1.	Procesos de eliminación no húmedos	17
2.3.1.1.	<i>Proceso Claus (oxidación directa)</i>	17
2.3.1.2.	<i>Óxidos de hierro y cinc</i>	18
2.3.1.3.	<i>Sólidos alcalinos</i>	18
2.3.1.4.	<i>Adsorbentes</i>	19
2.3.2.	Procesos de eliminación húmedos	19
2.3.2.1.	<i>Oxidación en fase líquida</i>	19
2.3.2.2.	<i>Sales alcalinas</i>	22
2.3.2.3.	<i>Procesos con alcanolaminas</i>	23
2.3.3.	Solventes físicos	24
2.3.3.1.	<i>Agua</i>	24
2.3.3.2.	<i>Otros solventes físicos</i>	24
2.3.4.	Procesos con membranas.....	24
2.4.	ELIMINACIÓN DE H₂S MEDIANTE BIOFILTRACIÓN	24
2.4.1.	Microorganismos.....	24
2.4.2.	Soportes utilizados en la eliminación de H ₂ S	31
2.4.3.	Resultados obtenidos en la eliminación de H ₂ S	32
2.5.	ELIMINACIÓN DE H₂S MEDIANTE PROCESOS COMBINADOS	38
2.5.1.	Eliminación de H ₂ S por absorción en Fe ₃ (SO ₄) ₂ y recuperación del reactivo mediante un reactor biológico	38
	Fig 7. Esquema simplificado proceso eliminación de H ₂ S con Fe ₃ (SO ₄) ₂ y recuperación del reactivo mediante un reactor biológico	39
2.5.2.	Proceso Shell-Paques THIOPAQ™ de desulfurización.....	39
2.6.	AMONIACO	40

2.6.1.	Propiedades.....	41
2.6.2.	Fuentes.....	42
2.6.3.	Usos.....	42
2.6.4.	Efectos sobre la salud.....	43
2.7.	ELIMINACIÓN DE NH ₃ MEDIANTE PROCESOS FÍSICO-QUÍMICOS.....	43
2.7.1.	Incineración térmica.....	43
2.7.2.	Combustión catalítica.....	44
2.7.3.	Oxidación catalítica selectiva de NH ₃ a nitrógeno.....	45
2.7.4.	Condensación.....	45
2.7.5.	Absorción.....	45
2.7.6.	Adsorción.....	46
2.8.	ELIMINACIÓN DE NH ₃ MEDIANTE BIOFILTRACIÓN.....	46
2.8.1.	Microorganismos.....	46
2.8.2.	Soportes utilizados en la eliminación de NH ₃	49
2.8.3.	Resultados obtenidos en la eliminación de NH ₃	52
2.9.	ELIMINACIÓN CONJUNTA DE H ₂ S Y NH ₃	53
2.10.	MODELOS MATEMÁTICOS.....	59
2.10.1.	Modelo de Ottengraf.....	59
2.10.2.	Modelo de Devinny y Hodge.....	61
2.10.3.	Modelo de Shareefdeen <i>et al.</i>	63
2.10.4.	Modelo de Deshusses <i>et al.</i>	64
2.10.5.	Modelos QSARs.....	65
2.10.6.	Otros modelos.....	65
3.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	67
3.1.	ELIMINACIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO EN AIRE MEDIANTE <i>Thiobacillus thioparus</i> INMOVILIZADO EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO EMPAQUETADO CON ESPUMA DE POLIURETANO.....	67
3.1.1.	Microorganismo.....	67
3.1.2.	Medio de cultivo.....	68
3.1.3.	Procedimiento de propagación y conservación.....	69

3.1.4.	Cinética de crecimiento	69
3.1.5.	Características del soporte	69
3.1.6.	Desarrollo y adaptación de biopelículas	70
3.1.6.1.	<i>Inmovilización en matraces</i>	70
3.1.6.2.	<i>Inmovilización in situ</i>	71
3.1.7.	Sistema experimental de eliminación de ácido sulfhídrico	73
3.1.7.1.	<i>Generación de la corriente de entrada</i>	74
3.1.7.2.	<i>Biofiltro de escurrimiento</i>	76
3.1.7.3.	<i>Equipos de control y medición</i>	76
3.1.8.	Estudio de la influencia de las principales variables de operación sobre la eficacia del proceso en la degradación de H ₂ S. Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación.....	77
3.1.8.1.	<i>Estudio del efecto del caudal de recirculación de nutrientes</i>	77
3.1.8.2.	<i>Estudio del efecto inhibitorio de la concentración de sulfato</i>	77
3.1.8.3.	<i>Estudio del efecto del pH</i>	77
3.1.8.4.	<i>Estudio del efecto de la carga de alimentación</i>	78
3.1.8.5.	<i>Estudio del efecto del tiempo de residencia</i>	78
3.1.8.6.	<i>Estudio del efecto de la pérdida de carga</i>	78
3.2.	ELIMINACIÓN DE AMONIACO EN AIRE MEDIANTE <i>Nitrosomonas europaea</i> INMOVILIZADA EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO EMPAQUETADO CON ESPUMA DE POLIURETANO	79
3.2.1.	Microorganismo.....	79
3.2.2.	Medio de cultivo	80
3.2.3.	Procedimiento de propagación y conservación de la cepa	81
3.2.4.	Cinética de crecimiento	81
3.2.5.	Características del soporte	81
3.2.6.	Desarrollo y adaptación de biopelículas	82
3.2.6.1.	<i>Inmovilización en matraces</i>	82
3.2.6.2.	<i>Inmovilización in situ</i>	82
3.2.7.	Sistema experimental de eliminación de amoniaco.....	83
3.2.7.1.	<i>Generación de la corriente de entrada</i>	84
3.2.7.2.	<i>Biofiltro de escurrimiento</i>	86
3.2.7.3.	<i>Equipos de control y medición</i>	86
3.2.8.	Estudio de la influencia de las principales variables de operación sobre la eficacia de degradación de NH ₃ . Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación	87

3.2.8.1.	<i>Estudio del efecto del caudal de recirculación de nutrientes</i>	87
3.2.8.2.	<i>Estudio del efecto de la concentración de nitrito</i>	87
3.2.8.3.	<i>Estudio del efecto del pH</i>	88
3.2.8.4.	<i>Estudio del efecto de la carga de alimentación</i>	88
3.2.8.5.	<i>Estudio del efecto del tiempo de residencia</i>	88
3.2.8.6.	<i>Estudio del efecto de la pérdida de carga</i>	88
3.3.	ELIMINACIÓN CONJUNTA DE MEZCLAS H₂S/NH₃ EN AIRE	89
3.3.1.	Estudio del desarrollo de biopelículas mixtas.....	89
3.3.2.	Eliminación en dos etapas en serie.....	89
3.3.3.	Eliminación en dos etapas en serie co-inmovilizando ambos microorganismos.....	92
3.3.4.	Eliminación en paralelo.....	94
3.4.	MÉTODOS DE ANÁLISIS	97
3.4.1.	Determinación de la concentración celular	97
3.4.2.	Determinación de la biomasa inmovilizada	98
3.4.3.	Determinación de biomasa viable	98
3.4.4.	Concentración de tiosulfato y sulfuro total	99
3.4.5.	Concentración de sulfato.....	100
3.4.6.	Análisis de ácido sulfhídrico	101
3.4.7.	Concentración de amoníaco.....	102
3.4.8.	Concentración de nitrito.....	103
3.4.9.	Análisis de amoníaco.....	104
3.4.10.	Pérdida de carga.....	104
3.4.11.	Preparación de muestras para microscopía electrónica de barrido	104
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	107
4.1.	ELIMINACIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO EN AIRE MEDIANTE <i>Thiobacillus thioparus</i> INMOVILIZADO EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO EMPAQUETADO CON ESPUMA DE POLIURETANO	107
4.1.1.	Cinética de crecimiento.....	107
4.1.2.	Desarrollo y adaptación de biopelículas	109
4.1.2.1.	<i>Inmovilización en matraces</i>	109
4.1.2.2.	<i>Inmovilización in situ</i>	113

4.1.2.3.	<i>Adaptación de la biopelícula</i>	118
4.1.3.	Estudio del efecto de las principales variables de operación sobre la eficacia del proceso en la degradación de H ₂ S. Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación	122
4.1.3.1.	<i>Estudio del efecto del caudal de recirculación de nutrientes</i>	122
4.1.3.2.	<i>Estudio del efecto inhibitorio de la concentración de sulfato</i>	123
4.1.3.3.	<i>Estudio del efecto del pH</i>	125
4.1.3.4.	<i>Determinación de la capacidad de eliminación máxima de degradación biológica</i> ...	128
4.1.3.5.	<i>Estudio del efecto del tiempo de residencia</i>	138
4.1.3.6.	<i>Estudio del efecto de la pérdida de carga</i>	150
4.2.	ELIMINACIÓN DE AMONIACO EN AIRE MEDIANTE <i>Nitrosomonas europaea</i> INMOVILIZADA EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO EMPAQUETADO CON ESPUMA DE POLIURETANO	153
4.2.1.	Cinética de crecimiento	153
4.2.2.	Desarrollo y adaptación de biopelículas	155
4.2.2.1.	<i>Inmovilización en matraces</i>	155
4.2.2.2.	<i>Inmovilización in situ</i>	159
4.2.2.3.	<i>Adaptación de la biopelícula</i>	165
4.2.3.	Estudio del efecto de las principales variables de operación sobre la eficacia del proceso en la degradación de NH ₃ . Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación	167
4.2.3.1.	<i>Estudio del efecto del caudal de recirculación de nutrientes</i>	167
4.2.3.2.	<i>Estudio del efecto inhibitorio de la concentración de nitrito</i>	168
4.2.3.3.	<i>Estudio del efecto del pH</i>	173
4.2.3.4.	<i>Estudio del efecto de la carga de alimentación</i>	176
4.2.3.5.	<i>Estudio del efecto del tiempo de residencia</i>	177
4.2.3.6.	<i>Estudio del efecto de la pérdida de carga</i>	180
4.3.	ELIMINACIÓN CONJUNTA DE MEZCLAS H₂S/NH₃ EN AIRE	183
4.3.1.	Estudio del desarrollo de biopelículas mixtas.....	183
4.3.2.	Eliminación en dos etapas en serie	185
4.3.3.	Eliminación en serie co-inmovilizando ambos microorganismos.....	190
4.3.4.	Eliminación en paralelo.....	199
4.3.4.1.	<i>Biofiltro BNE</i>	200
4.3.4.2.	<i>Biofiltro BTT</i>	206

5. CONCLUSIONES	213
6. ANEXOS.....	217
6.1. DEFINICIÓN DE LOS PARÁMETROS UTILIZADOS.....	217
6.1.1. Tiempo de residencia.....	217
6.1.2. Concentración del contaminante	217
6.1.3. Carga.....	218
6.1.4. Capacidad de eliminación	218
6.1.5. Porcentajes de eliminación.....	219
6.2. MODELADO CINÉTICO.....	220
6.2.1. Orden Cero.....	221
6.2.2. Primer orden	222
6.2.3. Tipo Monod	224
6.3. RECTAS DE CALIBRADO	227
6.3.1. Medición de sulfato	227
6.3.2. Medición de amoníaco	228
6.3.3. Medición de nitrito	229
6.3.4. Medición de H ₂ S fase gas	230
6.3.5. Medición de NH ₃ fase gas.....	231
7. BIBLIOGRAFÍA	233

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Distintos tipos de reactores biológicos para la eliminación de gases contaminantes	9
Tabla 2. Efectos sobre la salud: Exposiciones al ácido sulfhídrico	17
Tabla 3: Comparación de las bacterias que son capaces de crecer liototróficamente en presencia de compuestos reducidos de azufre	26
Tabla 4: Soportes y microorganismos utilizados en sistema de eliminación de H ₂ S mediante biofiltración	28
Tabla 5. Datos de eliminación de H ₂ S en biofiltros de escurrimiento	37
Tabla 6. Datos termodinámicos de oxidación de compuestos nitrogenados	43
Tabla 7. Datos de eliminación de NH ₃ mediante Biofiltración	50
Tabla 8. Velocidades de consumo de sustrato en la inmovilización en matraces de <i>Thiobacillus thioparus</i>	110
Tabla 9. Velocidades de consumo de sustrato en cada ciclo de inmovilización en la inmovilización en matraces de <i>Thiobacillus thioparus</i>	111
Tabla 10. Concentraciones de H ₂ S a las distintas alturas. EBRT 150 s	129
Tabla 11. Valores experimentales y calculados por el modelo a la salida del BTF. EBRT 150 s	130
Tabla 12. Constantes cinéticas. EBRT 150 s	131
Tabla 13. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,275 m; EBRT=150 s	133
Tabla 14. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,205 m; EBRT=150 s	133
Tabla 15. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,130 m; EBRT=150 s	134
Tabla 16. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,060 m; EBRT=150 s	134
Tabla 17. Valores cinéticos en función de la altura de la columna. EBRT 150 s	135
Tabla 18. Valores obtenidos de V _{max} y K _m por la linealización de los parámetros	137
Tabla 19. Concentraciones de H ₂ S a las distintas alturas. Carga 2,89 gSm ⁻³ h ⁻¹	140
Tabla 20. Concentraciones de H ₂ S a las distintas alturas. Carga 11,50 gSm ⁻³ h ⁻¹	140

Tabla 21. Valores experimentales y calculados por el modelo a la salida del BTF. Carga 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹	141
Tabla 22. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,275 m; Carga 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹	141
Tabla 23. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,205 m; Carga 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹	141
Tabla 24. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,130 m; Carga 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹	142
Tabla 25. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,060 m; Carga 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹	142
Tabla 26. Valores experimentales y calculados por el modelo para la salida del BTF. Carga 11,50 gSm ⁻³ h ⁻¹	142
Tabla 27. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,275 m; Carga 11,50 gSm ⁻³ h ⁻¹	143
Tabla 28. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,205 m; Carga 11,50 gSm ⁻³ h ⁻¹	143
Tabla 29. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,130 m; Carga 11,50 gSm ⁻³ h ⁻¹	143
Tabla 30. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,060 m; Carga 11,50 gSm ⁻³ h ⁻¹	144
Tabla 31. Valores de las constantes cinéticas para las cargas de 2,89 y 11,50 gS m ⁻³ h ⁻¹	144
Tabla 32. Ecuaciones empíricas para el cálculo de las constantes cinéticas para las cargas de 2,89 y 11,50 gS m ⁻³ h ⁻¹	147
Tabla 33. Valores de las constantes cinéticas empíricas para las cargas de 2,89 y 11,50 gS m ⁻³ h ⁻¹	147
Tabla 34. Parámetros de la ecuación de Ergun	151
Tabla 35. Velocidades de consumo de amoníaco y producción de nitrito por unidad de volumen en la inmovilización en matraces	157

Tabla 36. Velocidades de consumo de amoníaco y producción de nitrito por unidad de peso de soporte en la inmovilización en matraces	158
Tabla 37. Valores de concentración de las especies disociadas a pH de 6,5 y 7,5.....	175
Tabla 38. Parámetros de la ecuación de Ergun	182
Tabla 39. Pares de cargas de alimentación. Eliminación en serie (co-inmovilización).....	191
Tabla 40. Concentraciones de los productos de oxidación y sulfuro total que provocan una acumulación del sustrato (Biofiltros en serie co-inmovilización)	193
Tabla 41. Serie co-inmovilización. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H ₂ S. L _{H₂S} 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹	198
Tabla 42. Serie co-inmovilización. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H ₂ S. L _{NH₃} 2,5 gN m ⁻³ h ⁻¹	198
Tabla 43. Paralelo BNE. Concentraciones de los productos de oxidación que provocan una acumulación del sustrato.	203
Tabla 44. Paralelo BNE. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H ₂ S. L _{H₂S} 10,0 gSm ⁻³ h ⁻¹	205
Tabla 45. Paralelo BNE. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H ₂ S. L _{NH₃} 3,3 gN m ⁻³ h ⁻¹	206
Tabla 46. Paralelo BT ^r T. Concentraciones de los productos de oxidación que provocan una acumulación del sustrato.	208
Tabla 47. Paralelo BT ^r T. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H ₂ S. L _{H₂S} 3,5 gSm ⁻³ h ⁻¹	210
Tabla 48. Paralelo BT ^r T. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H ₂ S. L _{NH₃} 5,0 gN m ⁻³ h ⁻¹	210
Tabla 49. Paralelo BT ^r T. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H ₂ S. L _{NH₃} 8,6 gN m ⁻³ h ⁻¹	210
Tabla 50: Resumen ecuaciones modelado. Cinéticas de orden cero, uno y Monod.....	226

LISTA DE FIGURAS

Fig 1. Rango de aplicación de tecnologías para el tratamiento de emisiones gaseosas	5
Fig 2. Biolavador.....	10
Fig 3. Biofiltro	11
Fig 4. Biofiltro de escurrimiento	12
Fig 5: Ciclo biológico del azufre.....	25
Fig 6. Pasos metabólicos para la degradación de DMDS, DMS, MM y H ₂ S en especies de <i>Thiobacillus</i> y <i>Hyphomicrobium</i> . (Kelly and Smith 1990)	33
Fig 7. Esquema simplificado proceso eliminación de H ₂ S con Fe ₃ (SO ₄) ₂ y recuperación del reactivo mediante un reactor biológico	39
Fig 8. Esquema simplificado proceso THIOPAQ.	40
Fig 9. Ciclo biológico del nitrógeno.....	46
Fig 10. Pasos Metabólicos de oxidación de amoníaco a nitrito por <i>Nitrosomonas europaea</i>	47
Fig 11. Pasos Metabólicos de oxidación de nitrito a nitrógeno por <i>Nitrosomonas europaea</i>	48
Fig 12. Casos cinéticos considerados en el modelo de Ottengraff.....	61
Fig 13. Esquema de la estructura del modelo (Deshusses <i>et al</i> , 1995a)	65
Fig 14. Imagen SEM. Cultivo <i>Thiobacillus thioparus</i>	67
Fig 15. Colonias de <i>Thiobacillus thioparus</i>	68
Fig 16. Cubos de espuma de poliuretano.....	70
Fig 17. Sistema de distribución del medio líquido utilizado en los biofiltros.	71
Fig 18. Esquema de inmovilización in situ de la bacteria <i>Thiobacillus thioparus</i>	72
Fig 19. Sistema experimental de eliminación de ácido sulfhídrico	73
Fig 20. Generación de la corriente de entrada (H ₂ S) con gases licuados.....	75
Fig 21. Generación de la corriente de entrada (H ₂ S) por reacción química.....	76
Fig 22. Imagen SEM. Cultivo <i>Nitrosomonas europaea</i>	80
Fig 23. Esquema de inmovilización in situ de la bacteria <i>Nitrosomonas europaea</i>	83

Fig 24. Sistema experimental de eliminación de amoníaco	84
Fig 25. Generación de la corriente de entrada (NH ₃) con gases licuados	85
Fig 26. Generación de la corriente de entrada (NH ₃) mediante desabsorción	86
Fig 27. Sistema experimental de eliminación en serie	91
Fig 28. Sistema experimental eliminación en serie. Co-inmovilización	93
Fig 29. Sistema experimental eliminación en paralelo.....	95
Fig 30. Cámara Neubauer.....	97
Fig 31. Cuadrícula de recuento	97
Fig 32. Cinética de <i>Thiobacillus thioparus</i> . Concentraciones de biomasa (♦); tiosulfato (■), sulfato (●) azufre (+) y pH (▲).....	108
Fig 33. Cultivo crecido de <i>Thiobacillus thioparus</i>	108
Fig 34. Cálculo de la velocidad específica máxima de <i>Thiobacillus thioparus</i>	109
Fig 35. Evolución de las concentraciones de sustrato en la inmovilización en matraces de <i>Thiobacillus thioparus</i>	110
Fig 36. Evolución de la biomasa inmovilizada en la inmovilización en matraces de <i>Thiobacillus thioparus</i>	111
Fig 37. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de <i>Thiobacillus thioparus</i> inmovilizado en espuma de poliuretano	112
Fig 38. Fotografía del sistema de inmovilización in situ de <i>Thiobacillus thioparus</i>	114
Fig 39. Evolución de la biomasa inmovilizada en la inmovilización in situ de <i>Thiobacillus thioparus</i>	115
Fig 40. Fotos del soporte en el 4º ciclo (a) y el 11º ciclo (b)	116
Fig 41. Velocidades de consumo de sustrato en la inmovilización in situ de <i>Thiobacillus thioparus</i>	117
Fig 42. Evolución de las concentraciones de tiosulfato (■); sulfato (●) y biomasa (♦) durante el proceso de inmovilización in situ de <i>Thiobacillus thioparus</i>	118
Fig 43. Sistemas de generación de la corriente gaseosa de entrada.	119
Fig 44. Adaptación de la biopelícula. Concentración de sulfato (●); carga de alimentación (▼) y porcentaje de eliminación (+)	120

Fig 45. Evolución de la biomasa libre (♦) y de la concentración de sulfato (●) frente al tiempo en la fase de adaptación de la biopelícula.....	121
Fig 46. Porcentaje de eliminación frente a la altura a distintos caudales de recirculación. Eliminación H ₂ S.....	122
Fig 47. Porcentaje de eliminación frente a la velocidad superficial del líquido. Eliminación de H ₂ S.....	122
Fig 48. Efecto de la concentración de sulfato frente a la altura en la eliminación de H ₂ S.....	124
Fig 49. Porcentaje de eliminación a la salida frente a la concentración de sulfato en la eliminación de H ₂ S.....	124
Fig 50. Porcentaje de eliminación frente a la altura a distintos pH en la eliminación de H ₂ S.....	126
Fig 51. Porcentajes de eliminación R (+) y eliminación biológica (○) frente pH en la eliminación de H ₂ S.....	127
Fig 52. Capacidad de eliminación (■) y porcentaje de eliminación (+) frente carga a la salida del biofiltro en la eliminación de H ₂ S. EBRT 150 s.....	129
Fig 53. Procedimiento iterativo de cálculo.....	131
Fig 54. Ajuste del modelo. Capacidad de eliminación (■) y porcentaje de eliminación (+) frente a carga. Eliminación H ₂ S con EBRT de 150 s.....	132
Fig 55. Capacidad de eliminación frente a concentración media logarítmica. Valores experimentales y predichos por el modelo (rectas) a distintas alturas. EBRT 150 s.....	136
Fig 56. Predicción de los valores de las constantes cinéticas V _{max} (○) y K _m (Δ) en función de la altura. EBRT 150 s.....	137
Fig 57. Porcentajes de eliminación. Valores experimentales frente a predichos por el modelo. EBRT 150 s.....	138
Fig 58. Capacidad de eliminación frente concentración media logarítmica. (a) Carga 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹ ; (b) Carga 11,50 gS m ⁻³ h ⁻¹	140
Fig 59. Capacidad de eliminación frente a concentración media logarítmica. Valores experimentales y calculados por el modelo. (a) Carga 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹ ; (b) Carga 11,50 gS m ⁻³ h ⁻¹	145

Fig 60. Porcentaje de eliminación frente tiempo de residencia en función de la altura del biofiltro. Valores experimentales (símbolos) y calculados por el modelo (rectas). Carga 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹	145
Fig 61. Porcentaje de eliminación frente a tiempo de residencia en función de la altura del biofiltro. Valores experimentales (símbolos) y calculados por el modelo (rectas). Carga 11,50 gS m ⁻³ h ⁻¹	146
Fig 62. Comparación de los valores de V _{max} y K _m . Carga 2,89 (▲); Carga 11,50 (●)	148
Fig 63. Porcentajes de eliminación. Valores experimentales (símbolos) frente a predichos por el modelo (rectas). Carga 2,89 gS m ⁻³ h ⁻¹	148
Fig 64. Porcentajes de eliminación. Valores experimentales (símbolos) frente a predichos por el modelo (rectas). Carga 11,50 gS m ⁻³ h ⁻¹	149
Fig 65. Pérdida de carga por metro de columna frente a velocidad superficial del gas. ● BTF con biomasa inmovilizada; ● BTF sin biomasa.	150
Fig 66. Obtención de los parámetros de la ecuación de Ergun. ● BTF con biomasa inmovilizada; ● BTF sin biomasa.....	151
Fig 67. Cinética <i>Nitrosomonas europaea</i> . Concentraciones de biomasa (◆); amoníaco (■); nitrito (●) y pH (▲).....	153
Fig 68. Cálculo de la velocidad específica máxima de crecimiento de <i>Nitrosomonas europaea</i> ...	154
Fig 69. Evolución del pH y de las concentraciones de amoníaco y nitrito frente al tiempo en la inmovilización en matraces (Cultivo A)	156
Fig 70. Evolución del pH y de las concentraciones de amoníaco y nitrito frente al tiempo en la inmovilización en matraces (Cultivo B).....	156
Fig 71. Evolución de la biomasa Inmovilizada en la inmovilización en matraces de <i>Nitrosomonas europaea</i>	158
Fig 72. Imagen SEM de <i>Nitrosomonas europaea</i> sobre el soporte	159
Fig 73. Fotografía del sistema de Inmovilización in situ de <i>Nitrosomonas europaea</i>	160
Fig 74. Evolución de la biomasa inmovilizada de <i>Nitrosomonas europaea</i> en el proceso de inmovilización in situ	160

Fig 75. Fotografías del soporte en el 4° ciclo (a) y el 11° ciclo (b) de inmovilización in situ de <i>Nitrosomonas europaea</i>	161
Fig 76. Velocidad de consumo de sustrato para la inmovilización in situ de <i>Nitrosomonas europaea</i>	162
Fig 77. Evolución de la concentraciones de amoníaco (■), nitrito (●) y biomasa (◆) durante el proceso de inmovilización in situ.....	163
Fig 78. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●). Porcentaje de eliminación (+) y porcentaje de eliminación biológica (○) en la fase de adaptación de la biopelícula.....	165
Fig 79. Evolución de la biomasa en suspensión en la fase de adaptación de la biopelícula	166
Fig 80. Esquema de degradación de amoníaco por <i>Nitrosomonas europaea</i>	170
Fig 81. Estudio inhibitorio de la concentración de nitrito. Concentración de amoníaco (■) y nitrito (●). Porcentaje de eliminación biológica (○).....	172
Fig 82. Estudio del efecto del pH. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●) frente a tiempo.....	174
Fig 83. Estudio del efecto del pH. Porcentaje de eliminación (+) y porcentaje de eliminación biológica (○) frente a tiempo.	174
Fig 84. Efecto de la carga. Variación de las concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●); carga (—) y porcentajes de eliminación (+) y eliminación biológica (○).....	177
Fig 85. Efecto del tiempo de residencia. Variación de las concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●); EBRT (—) y porcentajes de eliminación (+) y eliminación biológica (○).....	178
Fig 86. Efecto de la carga. Variación de las concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●); Carga (—) y porcentajes de eliminación (+) y eliminación biológica (○).EBRT 11 seg	180
Fig 87. Pérdida de carga por metro de columna frente a velocidad superficial del gas. ● BTF con biomasa inmovilizada; ● BTF sin biomasa.	181
Fig 88. Obtención de los parámetros de la educación de Ergun. ● BTF con biomasa inmovilizada; ● BTF sin biomasa.....	182
Fig 89. Cinética <i>Thiobacillus thioparus</i> en medio mixto. Concentraciones de biomasa (◆); tiosulfato (■), sulfato (●) azufre (+) y pH (▲).....	183

Fig 90. Cálculo de la velocidad específica máxima de crecimiento de <i>Thiobacillus thioparus</i> en medio mixto.....	184
Fig 91. Eliminación en serie (BNE). Carga de amoníaco (—); carga de ácido sulfhídrico (—); concentraciones de amoníaco (■); nitrito (●) y sulfuro total (▼); porcentaje de eliminación de amoníaco (+); porcentaje de eliminación biológica de amoníaco (○) y porcentaje de eliminación de H ₂ S (+).....	186
Fig 92. Eliminación en serie (BTI). Carga de ácido sulfhídrico (▼); concentraciones de sulfato (●) y amoníaco (■); porcentaje de eliminación de ácido sulfhídrico (+)	189
Fig 93. Fotografía del sistema de eliminación conjunta en serie (co-inmovilización)	190
Fig 94. Serie co-inmovilización (BNE). Carga de amoníaco (—); carga de ácido sulfhídrico (—) frente al tiempo.....	191
Fig 95. Serie co-inmovilización. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●) frente al tiempo.....	192
Fig 96. Serie co-inmovilización. Concentraciones de sulfato (●) y sulfuro (▼) frente al tiempo	192
Fig 97. Serie co-inmovilización. Porcentaje de eliminación (+) y eliminación biológica (○) de amoníaco frente al tiempo.....	195
Fig 98. Serie co-inmovilización. Porcentaje de eliminación (+) y de eliminación biológica (○) de ácido sulfhídrico frente al tiempo	196
Fig 99. Serie co-inmovilización (BTI). Carga (—) y porcentaje de eliminación (+) de ácido sulfhídrico frente al tiempo	197
Fig 100. Fotografía sistema de eliminación en paralelo	200
Fig 101. Paralelo BNE. Carga de amoníaco (▽); carga de ácido sulfhídrico (▽) frente al tiempo	201
Fig 102. Paralelo BNE. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●) frente al tiempo.....	202
Fig 103. Paralelo BNE. Concentraciones de sulfato (●) y sulfuro total (▼) frente al tiempo .	202
Fig 104. Paralelo BNE. Porcentaje de eliminación (+) y eliminación biológica (○) de amoníaco frente al tiempo	204

Fig 105. Paralelo BNE. Porcentaje de eliminación (+) y de eliminación biológica (○) de ácido sulfhídrico frente al tiempo	205
Fig 106. Paralelo BTT. Carga de amoníaco (▽); carga de ácido sulfhídrico (▽) frente al tiempo	206
Fig 107. Paralelo BTT. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●) frente al tiempo.....	207
Fig 108. Paralelo BTT. Concentraciones de sulfato (●) y sulfuro (▼) frente al tiempo	207
Fig 109. Paralelo BTT. Porcentaje de eliminación (+) y eliminación biológica (○) de amoníaco frente al tiempo	209
Fig 110. Paralelo BTT. Porcentaje de eliminación (+) y de eliminación biológica (○) de ácido sulfhídrico frente al tiempo	209
Fig 111. Biopelícula mixta de <i>Thiobacillus thioparus</i> y <i>Nitrosomonas europaea</i>	212
Fig. 112 Capacidad de eliminación máxima y crítica	219
Fig. 113 Elemento diferencial de volumen para el balance de materia.....	220
Fig 114. Medición de sulfato (recta de calibrado).....	227
Fig 115. Medición de amoníaco (recta de calibrado).....	228
Fig 116. Medición de nitrito (recta de calibrado).....	229
Fig 117. Medición de ácido sulfhídrico en fase gaseosa (recta de calibrado).....	230
Fig 118. Medición de amoníaco en fase gaseosa (recta de calibrado).....	231

ACRÓNIMOS

ACGIH:	American Conference of Industrial Hygienists
AEDT:	Ácido etilendiamino tetracético
AMO:	Amonio monooxigenesa
ATP:	Trifosfato de adenosina
BF:	Biofiltro
BL:	Biolavador
BTF:	Biofiltro de escurrimiento
CAG:	Carbón activo granulado
CFM:	Controlador de flujo másico
CFU:	Colony forming unit
DEA:	Dietanolamina
DGA:	Diglicolamina
DIPA:	Diisopropanolamida
DMDS:	Dimetil disulfuro
DMS:	Dimetil sulfuro
EBRT:	Tiempo de residencia de lecho vacío
EPA:	Agencia de protección ambiental (USA)
HAO:	Hidroxilamina oxidoreductasa
INSHT:	Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo
MDEA:	Metildietanolamina
MEA:	Monoetanolamina
MEK:	Metil etil cetona
MIBK:	Metil isobutil cetona
MM o MT:	Metanotiol
NOx:	Óxidos de nitrógeno
QSARs:	Modelo cuantitativo estructura-actividad

SCO: Oxidación catalítica selectiva

TLV-STEL: Valor Límite Umbral - Límite de Exposición de Corta Duración

TLV-TWA: Valor Límite Umbral - Media Ponderada en el Tiempo

TRS: Compuesto de azufre reducidos

VLA-EC: Valor límite ambiental. Corta exposición

VLA-ED: Valor límite ambiental. Exposición diaria

VOCs: Compuestos orgánicos volátiles

NOMENCLATURA

A: área transversal del biofiltro (m^2)

A_i : actividad de la especie *Nitrosomonas europaea* ($\mu\text{mol O}_2 \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-3}$)

$A_{i,\text{MAX}}$: actividad máxima de la especie *Nitrosomonas europaea* ($\mu\text{mol O}_2 \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-3}$)

α : ordenada en el origen de la linealización de la ecuación de Ergun (Pa h m^{-2})

β : pendiente de la linealización de la ecuación de Ergun ($\text{Pa h}^2 \text{ m}^{-3}$)

C_i : concentración a la altura “i” (ppmv)

\overline{C}_0 : concentración de entrada del contaminante (g m^{-3})

C_0 : concentración de entrada del contaminante (ppmv)

\overline{C}_S : concentración de salida del contaminante (g m^{-3})

C_S : concentración de salida del contaminante (ppmv)

C_{SALES} : concentración total de sales en el medio líquido (mM)

\overline{C}_i : concentración del contaminante a la altura “i” (g m^{-3})

\overline{C}_L : concentración del contaminante en el medio líquido de recirculación (g m^{-3})

\overline{C}_{\ln} : concentración media logarítmica (g m^{-3})

C_{\ln} : concentración media logarítmica (ppmv)

Dp: Diámetro de partícula de la ecuación de Ergun (m)

EBRT: tiempo de residencia (s)

EC: capacidad de degradación ($\text{g m}^{-3} \text{ h}^{-1}$)

F: flujo molar (mol h^{-1})

h: altura (m)

\mathcal{H} : constante de Henry (adimensional; atm/fracción molar)

I: volumen gastado en la valoración por yodometría (ml)

K_a : Constante ácida de disociación

K_b : Constante básica de disociación

K_{I,NH_3} : constante de inhibición de amoníaco (mM)
 K_{I,NO_2} : constante de inhibición de nitrito (mM)
 K_1 : constante cinética de orden uno (h^{-1})
 K_m : constante de saturación (ppmv)
 K_0 : constante cinética de orden cero ($g\ m^{-3}h^{-1}$)
 L : carga de alimentación ($g\ m^{-3}h^{-1}$)
 L_{H_2S} : carga de alimentación de ácido sulfhídrico ($gS\ m^{-3}h^{-1}$)
 L_{NH_3} : carga de alimentación de amoníaco ($gN\ m^{-3}h^{-1}$)
 λ : factor de conversión $g\ m^{-3}$ a ppmv ($ppmv\ g^{-1}\ m^3$)
 M : molaridad de la disolución de yodato empleada en la yodometría ($mol\ L^{-1}$)
 μ : velocidad específica máxima de crecimiento (h^{-1})
 μ_G : viscosidad de la corriente de aire a tratar ($Kg\ m^{-1}\ s^{-1}$)
 ΔP_{H_2O} : Incremento de presión en la columna desde la entrada a la salida (cm de H_2O)
 ΔP : Incremento de presión en la columna desde la entrada a la salida (Pa)
 P_m : peso molecular ($g\ mol^{-1}$)
 Q : caudal de gas (m^3h^{-1})
 R : porcentaje de eliminación (%)
 r^2 : coeficiente de regresión lineal
 R_b : porcentaje de eliminación biológica (%)
 ρ_G : densidad de la corriente de aire a tratar ($Kg\ m^{-3}$)
 t : tiempo (s)
 T : temperatura ($^{\circ}C$)
 τ : tiempo de residencia real (s)
 V : volumen empaquetado (m^3)
 Φ : diámetro del biofiltro (mm)
 v_L : velocidad superficial del medio líquido de recirculación ($m\ h^{-1}$)
 v_g : velocidad superficial del gas ($m\ h^{-1}$)
 V : volumen empaquetado (m^3)

V_L : volumen de líquido (m^3)

V_m : volumen de muestra tomado para realizar la yodometría (ml)

V_{max} : velocidad máxima de degradación ($g\ m^{-3}h^{-1}$)

X : concentración de biomasa ($cel\ ml^{-1}$)

X_0 : concentración de biomasa inicial ($cel\ ml^{-1}$)

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación atmosférica es uno de los problemas ambientales más importantes. Las causas que originan esta contaminación son diversas y pueden tener su origen por la acción del hombre (antropogénico) o bien por causas naturales (telúrico). Con frecuencia, la contaminación natural ocurre en cantidades mayores que la producida por las actividades humanas, sin embargo, ésta última es de mayor impacto y representa una amenaza más significativa.

La emisión de contaminantes gaseosos a la atmósfera provoca una serie de impactos ambientales apreciables a diversas escalas tales como la lluvia ácida, contaminación fotoquímica, efecto invernadero, etc. Además de estos efectos pueden generarse compuestos nocivos para las vías respiratorias y producir olores que afecten a la calidad de vida de las personas por causar molestias e incluso poner en peligro directamente la salud. La generación de olores está considerada como una forma específica de contaminación atmosférica, entendiéndose por tal la presencia en el aire de sustancias y formas de energía que alteran la calidad del mismo, de modo que implique riesgos, daños o molestias graves para las personas y bienes de cualquier naturaleza.

Los olores representan uno de los problemas más complejos relacionados con la contaminación del aire dado que la percepción del olor depende del individuo. La nariz del hombre es capaz de detectar cantidades minúsculas de algunas sustancias, incluso en el intervalo de ppm y ppb (Ottengraf 1986). El control de los olores es un problema complejo puesto que la percepción es subjetiva, lo que es repugnante para uno es aceptable para otros, es más fácil detectar un olor extraño y es más probable que sea motivo de quejas que uno conocido y debido a la fatiga una persona puede acostumbrarse prácticamente a cualquier olor, si se le da suficiente tiempo, y sólo se dará cuenta del mismo cuando ocurra un cambio de la intensidad. Además esta percepción del olor no es lineal, nos encontraremos compuestos que a bajas concentraciones son rápidamente detectados por el olfato y, a partir de determinadas

concentraciones mayores dejan incluso de ser percibidos como consecuencia de una saturación de las fosas nasales. Este hecho ocurre por ejemplo con el ácido sulfhídrico y otros compuestos sulfurados reducidos (metilmercaptano (MM), dimetil sulfuro (DMS) y dimetil disulfuro (DMDS)) conocidos también como TRS (Total Reduce Sulfur). El ácido sulfhídrico es uno de los compuestos principales responsables del mal olor, posee un olor característico a huevos podridos y un límite de detección excesivamente bajo entre 0,0085 y 1 ppmv (Lomans *et al.*, 2002).

Los compuestos más comunes responsables del mal olor se dividen en cuatro categorías (Manero 1997):

- Compuestos con nitrógeno: amoníaco (NH_3) y aminas.
- Compuestos sulfurados: sulfuro de hidrógeno (H_2S), metil mercaptano o metanotiol (CH_3SH , MM o MT), dimetil sulfuro ($(\text{CH}_3)_2\text{S}$, DMS), dimetil disulfuro ($(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$, DMDS)
- Ácidos volátiles grasos.
- Aldehídos, cetonas y ésteres.

Actualmente, son numerosas las actividades industriales potencialmente generadoras de olores: tratamiento de aguas residuales urbanas (EDAR), tratamiento de subproductos de origen animal, procesamiento de pescado y conservas, fundidores de grasas animales, fabricación de harinas de carne o pescado, industria alimentaria, mataderos, tratamiento de residuos sólidos urbanos (basuras, compostaje, vertederos), industria química y farmacéutica, industria del caucho, industrias del tabaco, refinerías de petróleo, producción de celulosa, etc. Dada la gran cantidad de fuentes emisoras de compuestos que generan olores, en los últimos años se ha realizado un esfuerzo por desarrollar tecnologías específicas para la eliminación de este tipo de compuestos.

Como fuente de generación de olores por emisiones de H_2S destacan las plantas depuradoras de aguas residuales debido a su gran número y cercanía a las poblaciones. La generación del H_2S se debe fundamentalmente al metabolismo en ambiente anaerobio de los sulfatos presentes en el agua residual por bacterias sulfatoreductoras. Para reducir la emisión de olores de las plantas de tratamiento de aguas residuales los tanques que contienen los lodos o las aguas residuales se cubren y se ventilan mediante un sistema de extracción para eliminar

los compuestos responsables del mal olor. Las emisiones de H_2S normalmente van acompañadas de otros TRS y amoníaco.

Sensibles a esta problemática de contaminación gaseosa, en el grupo de investigación “Reactores Biológicos y Enzimáticos” de la Universidad de Cádiz se comenzó con una línea de investigación sobre la biodesulfuración y biofiltración de efluentes gaseosos cuyo objetivo principal es la de proponer alternativas tecnológicas viables para la minimización de estos residuos dentro del campo de la Ingeniería Bioquímica. Así, el trabajo que se presenta en esta Tesis Doctoral se enmarca dentro de un proyecto financiado por el Plan Nacional de I+D+i titulado “*Viabilidad de la eliminación conjunta de H_2S y NH_3 presentes en efluentes gaseosos*” (PPQ2002-00217).

El objetivo general de este trabajo es el diseño y puesta en marcha de un sistema de eliminación conjunta de H_2S y NH_3 contenido en aire, con *Thiobacillus thioparus* y *Nitrosomonas europaea* inmovilizadas en un biofiltro de escurrimiento empaquetado con espuma de poliuretano.

Para llevar a conseguir este objetivo general, se fijaron los siguientes objetivos específicos:

- Desarrollo y adaptación de biopelículas de *Thiobacillus thioparus* sobre espuma de poliuretano para la degradación de H_2S en aire.
- Desarrollo y adaptación de biopelículas de *Nitrosomonas europaea* sobre espuma de poliuretano para la degradación de NH_3 en aire.
- Desarrollo y adaptación de biopelículas de *Thiobacillus thioparus* y *Nitrosomonas europaea* co-inmovilizadas sobre espuma de poliuretano para la degradación conjunta de una mezcla de $\text{H}_2\text{S}/\text{NH}_3$ en aire.
- Estudio de la influencia de las principales variables de operación sobre la eficacia del proceso en la degradación de H_2S por *Thiobacillus thioparus* inmovilizado en espuma de poliuretano utilizando un biofiltro de escurrimiento. Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación.
- Estudio de la influencia de las principales variables de operación sobre la eficacia del proceso en la degradación de NH_3 por *Nitrosomonas europaea* inmovilizado en espuma de

poliuretano utilizando un biofiltro de escurrimiento. Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación.

- Diseño y puesta en marcha de un sistema de biofiltración que permita la degradación de mezclas en aire de $\text{H}_2\text{S}/\text{NH}_3$ en una única etapa, utilizando un biofiltro de con *Thiobacillus thioparus* y *Nitrosomonas europaea* co-inmovilizadas en espuma de poliuretano. Determinación de las condiciones óptimas de operación del sistema que favorezcan la máxima degradación de la mezcla $\text{H}_2\text{S}/\text{NH}_3$ en aire.

- Modelado cinético general del proceso y análisis de viabilidad.

2. ANTECEDENTES

2.1. TECNOLOGÍAS PARA EL TRATAMIENTO DE GASES

Las distintas tecnologías usadas para el tratamiento de emisiones gaseosas se pueden clasificar en físico-químicas y biológicas. Cada actividad industrial tiene una problemática distinta que hace que el sistema de desodorización aplicable sea distinto. Para la elección de éste, hay que tener en cuenta una serie de consideraciones: cuál es el problema del olor, su naturaleza, volumen a tratar, características del aire contaminado y características y gestión de los subproductos generados. Un análisis detallado de estos factores determinará en cada caso el grado de eficacia que se requiere y el sistema de tratamiento más adecuado.

En la Figura 1 se muestran los rangos de concentración y de flujo de aire en los cuales se aplican las distintas tecnologías existentes (Kosteltz *et al.*, 1996; Delhomenie and Heitz 2005). Así, se puede observar que los métodos biológicos son eficientes para grandes volúmenes de aire con bajas concentraciones de contaminante.

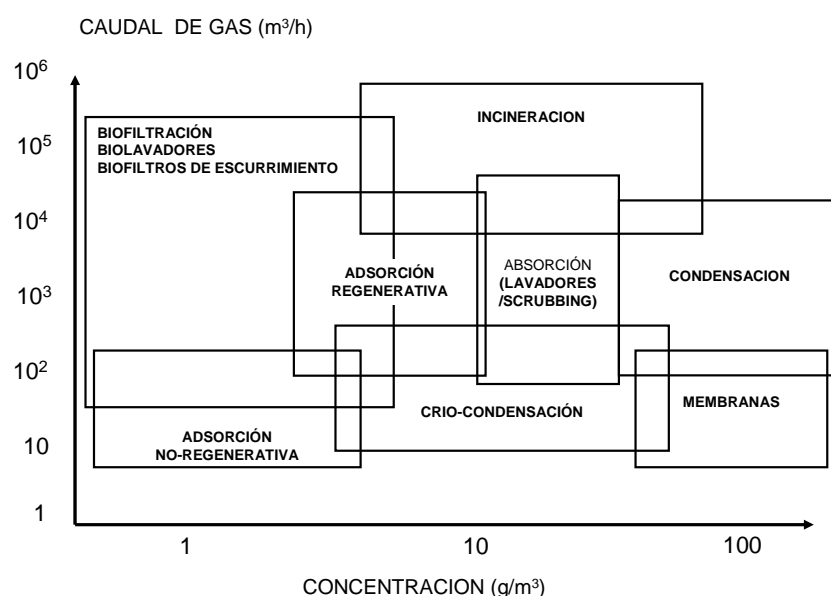


Fig 1. Rango de aplicación de tecnologías para el tratamiento de emisiones gaseosas

2.1.1. Tecnologías Físico-químicas

Tradicionalmente, se han utilizado las tecnologías de base físico-químicas, destacando entre ellas: la incineración, la absorción, la adsorción, la condensación y los procesos con membranas. A continuación se va describir cada una de las tecnologías físico-químicas.

2.1.1.1. Incineración

Se trata de un proceso en el cual el contaminante es capturado por un sistema de extracción, precalentado, mezclado y oxidado a altas temperaturas dando como resultado otros compuestos, fundamentalmente dióxido de carbono y agua en el caso de hidrocarburos, aunque se puede formar ácido clorhídrico, ácido fluorhídrico o dióxido de azufre por la presencia de cloro, flúor o azufre respectivamente. La formación de óxidos de nitrógeno es también posible durante la incineración. Las eficiencias de la oxidación son mayores del 99% (Kohl and Nielsen 1997). Existen principalmente dos tipos de oxidación: oxidación térmica y oxidación catalítica.

La combustión catalítica es una alternativa a la incineración térmica que permite bajar la temperatura al emplear catalizadores, aunque igualmente se emplea para tratar efluentes altamente concentrados. Las principales desventajas son el complicado diseño del reactor y los costes del catalizador (metales nobles y corta vida útil). De hecho, la combustión catalítica sufre de inhibición del catalizador cuando el gas contiene compuestos de azufre (Busca and Pistarino 2003).

2.1.1.2. Adsorción

La adsorción es la transferencia selectiva de uno o más solutos de una fase fluida a partículas sólidas. Los compuestos son eliminados de la corriente gaseosa al transferirse a la superficie sólida del adsorbente; estos sólidos presentan una alta relación superficie volumen (Regina 2006). Existen dos tipos de procesos de adsorción: adsorción química y adsorción física. En la adsorción física el compuesto es retenido en la superficie del contaminante por fuerzas electrostáticas débiles, de manera que el material puede ser regenerado de forma fácil, cosa que no ocurre en la adsorción química donde los enlaces son de tipo fuerte, es por tanto

que industrialmente el empleo de la absorción física es mayoritario. La principal desventaja de esta técnica es la saturación del adsorbente después de un tiempo de operación determinado, siendo necesaria su regeneración o deposición final (Devinny *et al.*, 1999). Los adsorbentes más utilizados son el carbón activo, sílica gel, zeolita, resinas sintéticas, etc. El carbón activo es el más utilizado para la eliminación de H_2S y VOCs por adsorción física; se trata de un adsorbente no polar, por lo que los hidrocarburos son preferentemente adsorbidos antes que los compuestos polares como el H_2S . Para la regeneración del carbón activo se suele emplear una corriente de vapor, que provoca el desplazamiento de los compuestos adsorbidos del soporte. Esta corriente es condensada a la salida para su posterior tratamiento, pero cuando se tratan compuestos de alto peso molecular se hace difícil la desadsorción debiéndose reemplazar el soporte.

2.1.1.3. Absorción

La absorción es un proceso físico, que consiste en la transferencia de masa impulsada por un gradiente de concentración de un componente soluble de una mezcla en fase gaseosa a un absorbente líquido, cuya volatilidad es baja en las condiciones de proceso (Perry *et al.*, 2001). La solución absorbente que se usa con mayor frecuencia es el agua, aunque también se utilizan soluciones alcalinas o ácidas, incluso aminas y algunos hidrocarburos dependiendo del compuesto a eliminar (Kohl and Nielsen 1997). Los agentes oxidantes más comúnmente empleados son el hipoclorito de sodio ($NaClO$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Regina 2006).

La capacidad de eliminación del absorbedor dependerá de las concentraciones en equilibrio entre la fase gaseosa y la líquida. Para concentraciones diluidas de muchos gases y en un buen intervalo de concentraciones, la relación de equilibrio está dada por la ley de Henry, que relaciona la presión parcial desarrollada por un soluto disuelto A en un disolvente líquido B. La transferencia de masa dependerá por tanto del coeficiente de partición (coeficiente de la ley de Henry), así como de la temperatura y el pH (Smet *et al.*, 1998).

La configuración más común consiste en las torres empacadas, donde la fase líquida entra en forma de lluvia dispersa por cabeza de columna y la gaseosa en contracorriente (Manero

1997); aunque son muchos los tipos de equipos empleados como columnas empacadas, torres de plato, aspersión etc (Regina 2006).

2.1.1.4. Condensación

La condensación se define como el proceso por el cual un vapor se transforma en un líquido (Perry *et al.*, 2001). Esto ocurre cuando el vapor es enfriado por debajo de su temperatura de saturación produciéndose la nucleación de gotas de líquido. Tal nucleación puede ocurrir homogéneamente dentro del vapor (formación de niebla) o heterogéneamente sobre las paredes del equipo (Buonicore 2000), siendo posible ser convertido cualquier gas en un líquido si se disminuye lo suficiente la temperatura y/o incrementa la presión.

Hay 3 tipos de condensadores en función de la temperatura de operación (Regina 2006): convencionales (-18°C hasta 4°C), refrigerados (-100°C) y criogénicos (-195,5°C).

Esta técnica se emplea cuando la concentración del contaminante es muy alta y la sustancia posee un punto de ebullición bajo, siendo por tanto sólo viable económicamente para vapores concentrados y cuando el compuesto recuperado tiene valor o puede ser reciclado. Los contaminantes con un alto punto de ebullición pueden ser concentrados por simultáneos ciclos de enfriamiento y compresión del gas (Devinny *et al.*, 1999).

2.1.1.5. Procesos con membranas

Los procesos con membrana se basan en las diferentes velocidades de permeabilidad a través de una delgada membrana de los compuestos. La fuerza impulsora es la diferencia de presión a ambos lados de la membrana. Debido a esto un 100% de eficacia no es posible y algún producto se perderá inevitablemente. Hay dos tipos de sistemas con membranas: Con alta presión de fase gas a ambos lados y con baja presión de adsorbente líquido a un lado.

2.1.2. Tecnologías Biológicas

Frente a las técnicas físico-químicas se encuentran los tratamientos biológicos cuya primera aplicación data de 1923 (Bach 1923), utilizándose esta tecnología para la eliminación de H₂S en una planta de tratamiento de aguas residuales, pero no es hasta 1980 cuando su

aplicación se extiende para la eliminación de otros compuestos presentes en los gases contaminados (Van Groenestijn and Hesselink 1993).

A todo proceso biológico utilizado para el control o tratamiento de compuestos volátiles orgánicos e inorgánicos presentes en corrientes gaseosas, se le conoce con el nombre de biofiltración (Devinny *et al.*, 1999). En función de la forma de operar, se pueden encontrar tres tipos de tratamientos biológicos: biolavadores (bioscrubber), biofiltros de escurrimiento (biotrickling filter) y biofiltros propiamente dichos. Se diferencian entre ellos según la presencia o no de un soporte, la fase móvil y el estado de la biomasa activa (Tabla 1).

<i>Reactor</i>	<i>Fase móvil</i>	<i>Soporte</i>	<i>Biomasa activa</i>
Biolavador (BL)	Líquida y gaseosa	Ninguno	Dispersa
Biofiltro de escurrimiento (BTF)	Líquida y gaseosa	Sintético	Inmovilizada
Biofiltro (BF)	Gaseosa	Orgánico/Sintético	Inmovilizada

Tabla 1: Distintos tipos de reactores biológicos para la eliminación de gases contaminantes

Los sistemas biológicos de tratamiento de aire son considerados como tecnologías limpias o verdes y presentan una serie de ventajas comunes, entre las que destacan (Van Groenestijn and Hesselink 1993; Kennes and Thalasso 1998; Devinny *et al.*, 1999; Delhomenie and Heitz 2005):

- Su capacidad para degradar los contaminantes a otros productos inocuos o menos contaminantes a una temperatura y presión ambientales.
- Costes de inversión moderados.
- Costes de operación son relativamente bajos, teniendo en cuenta el elevado volumen de gases que se pueden tratar con bajas concentraciones de los compuestos contaminantes.
- Se obtienen altos rendimientos de degradación en el tratamiento de un elevado número de compuestos contaminantes atmosféricos, pudiéndose tratar de forma efectiva mezclas de compuestos orgánicos e inorgánicos.

- Procesos aceptados por la opinión pública como "naturales" y tienen un bajo requerimiento energético en el equipamiento.

En cuanto a las desventajas, cada configuración tiene las propias, pero las comunes son:

- Necesidad de una etapa de acondicionamiento de la corriente de entrada.
- Ciertos compuestos de etapas previas de depuración o del proceso productivo pueden ser tóxicos y/o letales para los microorganismos.
- Elevada sensibilidad de éstos a los cambios de temperatura, humedad y pH.

2.1.2.1. Biolavadores (Bioscrubbers)

Se trata de un sistema con dos etapas, en una primera el contaminante se absorbe en agua con una torre de aspersión o una columna de absorción, y en una segunda se trata la corriente líquida en un reactor de lodos activos (Figura 2). Estos sistemas son adecuados cuando el contaminante es altamente soluble en agua, dada la necesidad de la transferencia del contaminante de la fase gas a la líquida (Ottengraf 1986; Van Groenestijn and Hesselink 1993; Kennes and Thalasso 1998).

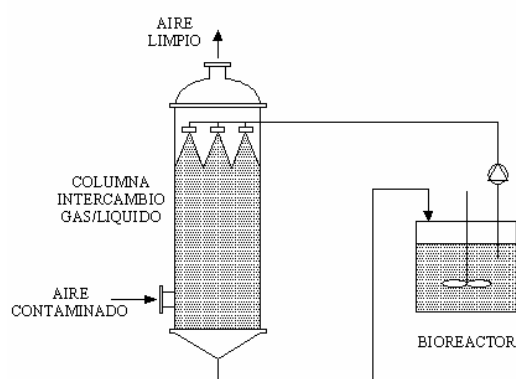


Fig 2. Biolavador

Por tanto, esta tecnología se restringe a compuestos con constantes de Henry menores a 0,01 y a concentraciones menores a 5 g m^{-3} (Kok 1992). Una ventaja de los biolavadores, con respecto a otros sistemas, es que la fase móvil acuosa permite un buen control de temperatura, pH y adición de nutrientes en el proceso (Van Groenestijn and Hesselink 1993), así como una

fácil eliminación de los productos de reacción y la consecuente eliminación de posibles efectos inhibitorios (Kennes and Thalasso 1998).

2.1.2.2. Biofiltros

Consiste en un filtro biológico relleno de un soporte orgánico (turba, compost, tierra, etc.) cuya función es fijar la biomasa y servir como fuente de nutrientes (Devinny *et al.*, 1999) (Figura 3); a veces también se añaden materiales sintéticos para disminuir la pérdida de carga y como soporte de material orgánico (Van Groenestijn and Hesselink 1993).

La corriente gaseosa previa humidificación se alimenta a través del lecho y los contaminantes son absorbidos en la película líquida que se forma, siendo degradados por la biomasa. La principal característica de los biofiltros es la ausencia de una fase móvil, por lo que son adecuados para tratar contaminantes de baja solubilidad en agua (Kennes and Thalasso 1998). Se utiliza en compuestos con constantes de Henry menores de 10 y concentraciones menores de 1 g m^{-3} (Kok 1992).

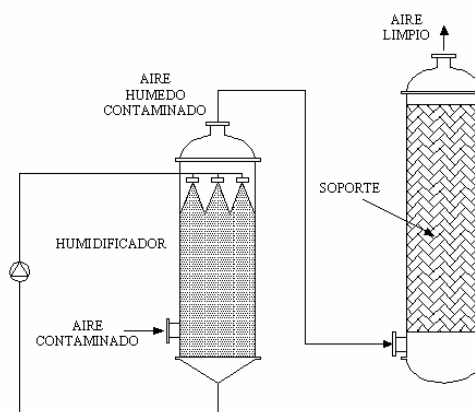


Fig 3. Biofiltro

2.1.2.3. Biofiltros de escurrimiento (*Biotrickling filter*)

Consiste en un filtro biológico empaquetado con un soporte sintético en el cual se forma una biopelícula (Figura 4). A través del lecho se alimenta la corriente gaseosa con el contaminante a eliminar y, por su parte superior, se añade una corriente líquida, que es

recirculada para aportar los nutrientes esenciales a la biopelícula, mantener las condiciones de humedad, pH, además de eliminar los productos de degradación (Kennes and Thalasso 1998).

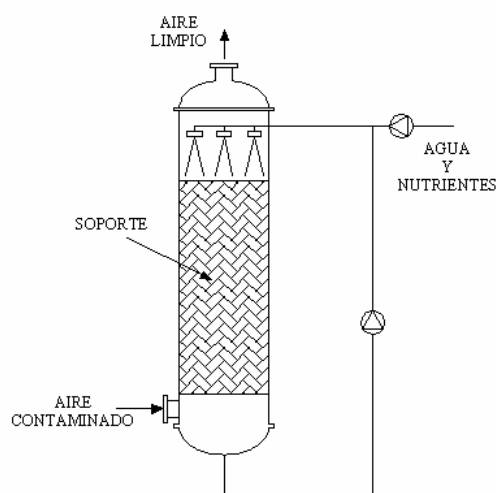


Fig 4. Biofiltro de escurrimiento

A medida que el gas atraviesa el lecho poroso, los contaminantes son degradados por la biomasa activa que los utiliza como fuente de nutrientes y/o energía. En este caso, la absorción y degradación de los contaminantes ocurre en el mismo equipo frente a lo que ocurre en los biolavadores. Los materiales usados comúnmente como soportes son polímeros, cerámicas, zeolita, carbón activo o mezcla de varios materiales (Cohen 2001). Se utiliza en compuestos con constantes de Henry menores de 1 y concentraciones menores de $0,5 \text{ g m}^{-3}$ (Kok 1992).

2.2. SULFURO DE HIDRÓGENO

2.2.1. Propiedades

El sulfuro de hidrógeno (H_2S) es un gas incoloro y muy tóxico con olor característico a huevos podridos. Se le conoce, entre otros nombres, como: ácido hidrosulfúrico, gas de alcantarilla y ácido sulfhídrico.

En el siguiente listado se detallan algunas de las propiedades físico-químicas más importantes (Smet *et al.*, 1998; Carson and Mumford 2002; EPA 2003; ICSC 2003a).

- N° CAS: 7783-06-04
- Fórmula: H_2S
- Peso molecular: 34,08
- Punto de ebullición: $-60,7^\circ\text{C}$
- Punto de fusión: -85°C
- Presión de vapor a 20°C : 18,8 bar
- Coeficiente de Henry a 25°C (mol m^{-3})_{aire} / (mol m^{-3})_{agua}): 0,41
- Solubilidad en agua (g/100ml): 437 ml (0°C), 186 ml (40°C)
- Densidad relativa de vapor (aire=1): 1,19
- Punto de inflamación: gas inflamable
- Temperatura de autoignición: 260°C
- Límites de explosividad (% en volumen en el aire): 4,3 – 45,5
- Constantes de disociación: $\text{pK}_{\text{a}1}=7,02$ (genera anión hidrosulfito HS^-); $\text{pK}_{\text{a}2}=11,96$ (genera el anión disulfuro S^{2-})
- Factor de conversión: 1 ppmv=1,39 mg m^{-3} (25°C)

El umbral de detección varía según los autores, entre 0,0085 y 1 ppmv (De Zwart and Kuenen 1992; Lomans *et al.*, 2002), entre 0,0005 y 0,01 ppmv (Ruth 1986) o entre 0,01 y 0,3 ppmv (Guidotti 1994). Como se puede comprobar el límite de detección es excesivamente bajo y varía, dado que la sensibilidad a la hora de detectar un olor depende de muchos factores, tanto del individuo (sensibilidad, subjetividad, costumbre, etc.) como ambiental (humedad, temperatura, etc.) (Wark *et al.*, 2004). Según la Nota Técnica de Prevención 320 del INSHT el umbral olfativo del H_2S es 0,0081 ppmv, siendo irritante a partir de 10,04 ppmv y dejándose de oler a partir de 100-150 ppmv.

Los valores límites de exposición ambiental, según la ACGIH, para el H_2S son de 10 ppmv ($13,9 \text{ mg m}^{-3}$) para el TLV-TWA y de 15 ppmv ($20,85 \text{ mg m}^{-3}$) para el TLV-STEL (ICSC 2003a). En España es el INSHT el encargado de publicar los valores de referencia para los

agentes químicos que carezcan de valores límites reglamentarios según el RD 374/2001, de 6 de abril sobre la protección de la salud y seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo, siendo para el caso del H₂S el valor del VLA-ED de 10 ppmv (14 mg m⁻³) y el VLA-EC de 15 ppmv (21 mg m⁻³)¹.

2.2.2. Fuentes

El ácido sulfhídrico se encuentra de forma natural en los gases de los volcanes, manantiales de azufre, emanaciones de grietas submarinas, pantanos, petróleo crudo, gas natural y como producto de la degradación biológica de la materia orgánica. Las fuentes industriales engloban a una gran cantidad de industrias: refinerías, plantas de gas natural, plantas petroquímicas, hornos de coque, industria alimentaria, industria del papel, curtidurías, etc; pero destacan las plantas depuradoras de aguas residuales como las más significativas en la generación de olores debido a su gran número y cercanía a las poblaciones (Smet *et al.*, 1998; Syed *et al.*, 2006).

Toda planta de tratamiento de aguas residuales es susceptible de generar olores, aunque son las que realizan un tratamiento anaerobio las que generan mayores problemas. En un ambiente anaerobio, las bacterias sulfatoreductoras producen ácido sulfhídrico como consecuencia de su metabolismo de degradación de los sulfatos presentes en el agua residual. Conjuntamente con el H₂S se ha identificado la presencia de compuestos órgano sulfurados como MeSH, Me₂S, Me₂S₂ y COS en las emisiones (Dechant *et al.*, 1999).

Para reducir la emisión de olores de las plantas de tratamiento de aguas residuales, los tanques que contienen los lodos o las aguas residuales se cubren y se ventilan mediante un sistema de extracción para eliminar los compuestos responsables del mal olor. En el año 2000 se realizó un estudio en los Países Bajos para ver que tipo de tratamiento se utilizaba, y se detectó que el 78% de las plantas utilizaban sistemas de tratamiento biológico, el 11% biolavadores químicos, el 2% procesos de adsorción con carbón activo y el 9% introducía los gases en el tanque de aireación de la propia planta. En las nuevas instalaciones que se

¹ <http://www.mtas.es/insht/practice/vla5.htm>

encuentran en construcción y puesta en marcha no es usual encontrar el uso de biolavadores químicos, produciéndose un desplazamiento hacia el uso de biofiltros de escurrimiento con soportes sintéticos (Van Groenestijn and Kraakman 2005). Este hecho ha provocado que se haya desarrollado un gran trabajo de investigación en este campo de aplicación medioambiental.

Así, Chitwood *et al.* (1999) han trabajado con un biofiltro de escurrimiento en una planta de tratamiento de aguas residuales, siendo la concentración de H_2S de 5 ppmv y con una concentración de VOC entre 0,1 y 1 ppmv. Por otro lado, Wu *et al.* (2001) estudiaron un biofiltro de escurrimiento a nivel de planta piloto en una EDAR, teniendo la corriente de aire a tratar una concentración máxima de H_2S de 20 ppmv y de VOCs de 70 a 120 g l⁻¹; y Morton and Caballero (1997) hicieron lo mismo llegando a tratar concentraciones máximas de H_2S de 380 ppmv. Por su parte, Shinabe *et al.* (1995) estudiaron la eliminación de H_2S y MM generados en una EDAR con *Thiobacillus thiooxidans*, siendo la concentración máxima de H_2S de 17 ppmv.

Como se puede observar, todas estas aplicaciones trataron concentraciones relativamente bajas de H_2S , pero las concentraciones de este compuesto son mucho mayores en el biogás procedente de la digestión anaerobia. En el biogás la concentración de H_2S varía entre 300 y 6000 ppmv (Nishimura and Yoda 1997; Schieder *et al.*, 2003). La producción de metano a partir de biomasa se puede llevar a cabo vía térmica o biológica. Mediante la vía térmica la conversión es rápida y completa, pero se requiere un bajo contenido en agua, puesto que si contiene mucha agua se requieren grandes cantidades de energía para la vaporización antes de la gasificación. Es por esto, que son más utilizados los procesos biológicos empleando bacterias metanogénicas.

El desarrollo de la biofiltración ha sido tan rápido en los últimos años que pueden existir en Europa unas 7500 plantas de tratamiento de gases, de las cuales aproximadamente la mitad se encuentran en plantas de tratamiento de aguas residuales y plantas de compostaje (Van Groenestijn and Kraakman 2005).

En cuanto a los procesos químicos es la industria de la celulosa una de las principales industrias generadoras de H_2S , gozando del rechazo popular. Los digestores anaerobios de las

plantas de tratamiento de agua residuales de la industria del papel pueden llegar incluso hasta 30000 ppmv (Schieder *et al.*, 2003). A nivel mundial el principal proceso de producción de celulosa es el “proceso Kraft”. En este proceso las astillas de madera son cocidas en una solución alcalina, basada en Na_2S y NaOH , para extraer la lignina. Los principales componentes de las emisiones son H_2S , MeSH , Me_2S y Me_2S_2 (Karnofski 1975), siendo el H_2S uno de los agentes más nocivos.

Otra industria química importante que genera H_2S es la industria del refino del petróleo. El H_2S se encuentra naturalmente en la mayoría de los crudos y se forma también durante el procesado, debido a la descomposición de compuestos de azufre inestables. Los principales focos de emisión son: la destilación atmosférica, el craqueo (térmico o catalítico) y el hidrotratamiento.

Los procesos a alta temperatura, tales como las plantas de tratamiento de grasas animales, también son un importante foco de emisión. Mediante estas plantas se obtienen productos como colas, alimentos para peces y sebo. Los principales compuestos que se emiten son H_2S , MeSH , etanotiol y NH_3 (Lecomte *et al.*, 1995). Otros procesos que emiten H_2S a alta temperatura son las plantas de incineración de lodos (Smet and Van Langenhove 1998).

2.2.3. Usos

El H_2S se utiliza industrialmente en la manufactura de azufre elemental, agua pesada, industria metalúrgica, como reactivo analítico y en agricultura como desinfectante (Svendsen 2001).

2.2.4. Efectos sobre la salud

Existen tres rutas de asimilación del H_2S por el cuerpo humano: oxidación, metilación y reacciones con metaloproteínas. El principal camino de asimilación es el de oxidación, ya que al pH fisiológico (7,4) aproximadamente el 69% del H_2S se encuentra ionizado (HS^-). Como producto principal del metabolismo se obtiene el sulfato, aunque también se ha aislado tiosulfato de tejidos expuestos al H_2S (EPA 2003). La principal ruta de eliminación del cuerpo es mediante la orina; trabajadores voluntarios expuestos a concentraciones de 8, 18 y 30 ppmv

durante 30-45 minutos dieron positivo en tiosulfato al analizar muestras de orina (Kangas and Savolainen 1987).

En la Tabla 2 se exponen los efectos que provocan las exposiciones a H_2S en ser humano (Krüger 2001).

[H_2S] ppmv	Posibles efectos sobre la salud
< 1	Olor detectable
10	Posible irritación en los ojos y garganta, pérdida del sueño después de exposiciones prolongadas. Efectos reversibles
20-200	Irritación de ojos y tracto respiratorio, pérdida del olfato, dolor de cabeza y náuseas.
100	Inmediatamente peligroso para la vida y salud. Efectos irreversibles
200	La exposición continuada puede causar edema pulmonar así como inflamación de ojos y párpados (Queratoconjuntivitis)
500-700	Afecta al sistema nervioso central, exposiciones durante pocos minutos causan pérdida del conocimiento, equilibrio y cese de la respiración.
700-1000	Pérdida inmediata de la consciencia, daños permanentes en el cerebro y muerte si no se retira a la persona inmediatamente.

Tabla 2. Efectos sobre la salud: Exposiciones al ácido sulfhídrico

2.3. ELIMINACIÓN DE H_2S MEDIANTE PROCESOS FÍSICO-QUÍMICOS

2.3.1. Procesos de eliminación no húmedos

2.3.1.1. Proceso Claus (oxidación directa)

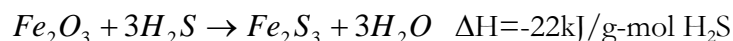
Se basa en la oxidación catalítica del H_2S a azufre elemental. Se trata de uno de los procesos más populares empleados a escala industrial para la eliminación de H_2S con recuperación de azufre elemental. En una primera etapa el H_2S es parcialmente oxidado a SO_2 con aire, y en una segunda etapa, la mezcla H_2S/SO_2 es oxidada a azufre elemental y agua, empleando bauxita como catalizador. La eficacia de conversión de H_2S a azufre elemental es del 90-95% (Kohl and Nielsen 1997).

2.3.1.2. Óxidos de hierro y cinc

Se basan en la reacción del óxido de un metal con el H₂S para formar el sulfuro del correspondiente metal. Los óxidos son típicamente no regenerables aunque algunos se pueden regenerar parcialmente, pero siempre irán perdiendo actividad en cada ciclo de generación hasta que sea indispensable su sustitución. Para la regeneración se realiza una oxidación para producir azufre elemental y el óxido del metal regenerado. Los metales más empleados para este tipo de proceso son hierro y cinc.

Se pueden dividir en dos grupos: oxidación a azufre y oxidación a óxidos de azufre. Para el tratamiento de biogás se puede producir mediante esta técnica SO₂, por lo que no se recomienda este tipo de proceso.

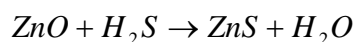
Los procesos que emplean óxido férrico son conocidos como “iron sponge”. Según la ecuación de la reacción química, 1 kg de Fe₂O₃ puede eliminar estequiométricamente 0,64 kg de H₂S.



El proceso de regeneración es muy exotérmico y se forma azufre elemental según:



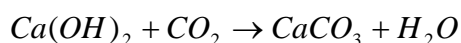
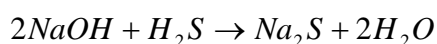
Si se utilizan óxidos de cinc se obtiene al reaccionar con el H₂S sulfuro de cinc según la siguiente reacción general:



Se emplean temperaturas sobre 200°C a 400°C, siendo la formación de sulfuro de cinc irreversible. Normalmente se emplean formas cilíndricas extruídas del metal de 3-4 mm de diámetro y 8-10 mm de longitud en un lecho fijo o fluidizado (Kohl and Nielsen 1997).

2.3.1.3. Sólidos alcalinos

También se pueden emplear sustancias sólidas alcalinas como hidróxido de sodio o cal apagada, normalmente se emplean disueltas en agua para utilizarlas en scrubbers, pero también se pueden utilizar de forma sólida granular. Las reacciones predominantes son:



2.3.1.4. Adsorbentes

Tanto las zeolitas naturales como las sintéticas poseen un tamaño de poro extremadamente uniforme, siendo empleadas para la deshidratación o purificación de efluentes gaseosos. Las sustancias polares como agua, ácido sulfhídrico, dióxido de azufre, amoníaco, sulfuro de carbono y mercaptanos son adsorbidos muy fuertemente, pudiendo ser eliminados de sustancias no polares, como por ejemplo el metano.

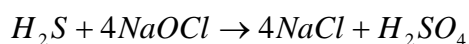
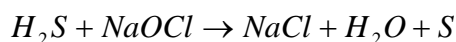
El carbón activo granulado (CAG) es fundamentalmente empleado para la eliminación de COV's. La utilización para la eliminación de H₂S ha sido limitada para la eliminación de pequeñas cantidades de H₂S, fundamentalmente en sistemas de desodorización. Para aumentar la eficacia el CAG se ha impregnado con sustancias alcalinas u óxidos (Kohl and Nielsen 1997).

2.3.2. Procesos de eliminación húmedos

2.3.2.1. Oxidación en fase líquida

Oxidación con hipoclorito

El hipoclorito es considerado uno de los oxidantes más eficientes para la eliminación de compuestos sulfurados volátiles (Van Durme *et al.*, 1992). En función del pH de la disolución el compuesto activo es OCl⁻ a pH<6, HOCl a 2<pH<6 o Cl₂ a pH<2. La eliminación de H₂S se produce a pH entre 9 y 10 según:



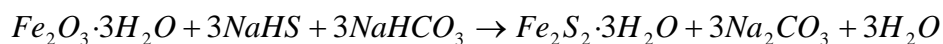
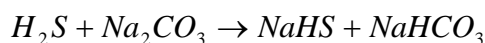
En este proceso es necesario añadir una base para el control del pH. A pH 9 la absorción de CO₂ es pequeña y no ocurre precipitación de CaCO₃ o MgCO₃. La utilización de hipoclorito permite eliminar además de H₂S compuestos orgánicos sulfurados; en el caso de eliminación de compuestos orgánicos sulfurados tiene un mayor poder oxidante el HClO

comparado con el OCl^- , siendo por tanto necesario trabajar a un pH mas bajo (Hentz *et al.*, 1990; Muirhead *et al.*, 1993).

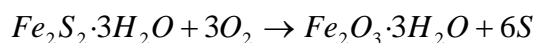
Si la corriente a tratar contiene amoníaco o aminas, estos compuestos son oxidados a cloroaminas, compuestos aún más tóxicos y malolientes, por lo que es necesario tratar la corriente para eliminar los compuestos nitrogenados antes de tratar con hipoclorito (Smet *et al.*, 1998).

Lavadores con óxidos de hierro y cinc

Estos tipos de procesos han sido los transitorios entre los procesos por vía seca y las tecnologías modernas de procesos redox en fase líquida. El proceso consiste en una reacción con una solución alcalina, seguida de la formación de sulfuro de hierro por reacción con el óxido férrico, según las ecuaciones siguientes:

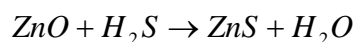
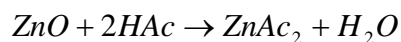
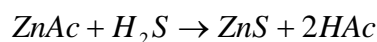


La regeneración se puede llevar a cabo mediante la oxidación, según la siguiente reacción, con la formación de azufre elemental:



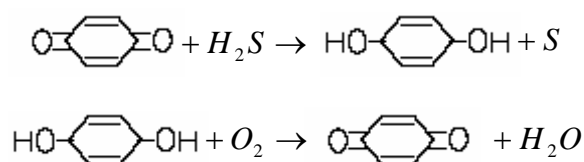
En el proceso se dan otras muchas reacciones, formándose tiosulfatos y tiocianatos que agotan la actividad del óxido férrico.

Un proceso más reciente consiste en la utilización de óxidos de cinc en medio líquido (Kohl and Nielsen 1997). Se emplean mezclas de óxido de cinc, acetato de cinc y un agente dispersante, mezclados en agua en una columna de borboteo (proceso Chemsweet® (Natco, Inc.)). Durante el proceso el pH se mantiene bajo para evitar la absorción de CO_2 . Las reacciones generales son:

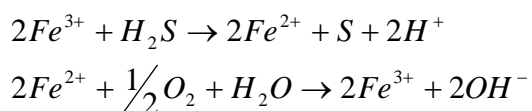


Proceso con Quinona y Vanadio

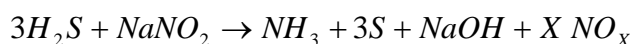
El proceso emplea quinonas con sales de vanadio; es conocido como proceso Strefford. En una primera etapa se reduce la quinona formándose azufre elemental, y en una segunda etapa mediante una oxidación se logra regenerar el reactivo.

*Soluciones de hierro con un agente quelatante*

Se basa en una reacción redox empleando iones de hierro unidos a un agente quelatante similar al AEDT (Mansfield *et al.*, 1992). Uno de los procesos más implantados en el mercado es conocido como LO-CAT® (US filter/Merichem); se aplica a la eliminación de H₂S del biogás y consigue eliminaciones mayores del 99%, la solución catalítica no es tóxica y opera a temperatura ambiente (Kohl and Nielsen 1997). Las reacciones fundamentales son:

*Soluciones con nitrito*

Soluciones de nitrito han sido empleadas para la eliminación de H₂S en columnas de borboteo. La ecuación general es:



En presencia de CO₂ el NaOH es neutralizado produciendo carbonato de sodio y bicarbonato. El proceso produce amoníaco y óxidos de nitrógeno (NO_x), los cuales pueden ser igual de problemáticos que el H₂S. Sulfa-Check® (NL Industries, Inc) y Hond HS-100® (Hondo Chemical, Inc) comercializan dos medios basados en nitrito para la eliminación de H₂S.

Se utiliza una columna de borboteo en la cual las condiciones óptimas de trabajo son:

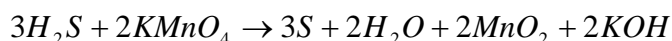
- Temperatura óptima de 23,8 a 43,3°C.

- Velocidad máxima superficial de gas por debajo de $0,048 \text{ m s}^{-1}$.
- Se necesita 0,21 litros de disolución por metro cúbico de gas a tratar y por ppmv de H_2S .

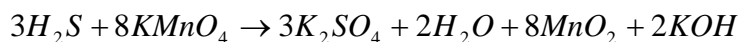
Soluciones de permanganato

Se puede llevar a cabo la oxidación con permanganato potásico, pero los costes son demasiado elevados, y los óxidos de permanganato deben ser adecuadamente tratados para su eliminación (Cadena and Peters 1988). Los compuestos que se forman dependen del pH.

Para pH menores de 7,5:

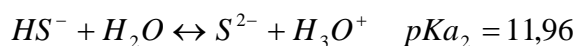
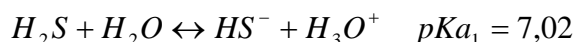


Para pH mayores de 7,5:



2.3.2.2. Sales alcalinas

Los procesos con soluciones alcalinas son eficientes en función del pH de la disolución. Según las ecuaciones de equilibrio:

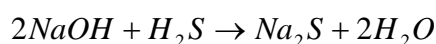


Para pH entre 8 y 11 predomina la primera reacción, mientras que la segunda reacción es predominante a pH mucho mayores. La principal desventaja de este tipo de proceso es la precipitación de carbonatos de calcio (CaCO_3) y magnesio (MgCO_3), fundamentalmente cuando el pH es mayor de 10 con los consiguientes problemas de obturación (Smet *et al.*, 1998).

Lavado cáustico

Soluciones de hidróxido de sodio son muy efectivas para eliminar CO_2 y H_2S , pero no se puede regenerar el reactivo. El H_2S se adsorbe mucho más rápido que el CO_2 , por lo que se

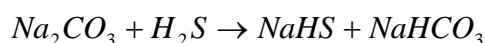
puede conseguir una selectividad parcial con tiempos de contacto bajos y a bajas temperaturas. Un ejemplo de efluente donde tenemos presentes ambos compuestos es en el biogás.



Las soluciones alcalinas presentan una alta eficiencia, sin embargo se han de mantener altos valores de pH para evitar la liberación de H_2S (Regina 2006).

Procesos con otras sales alcalinas

El proceso Seaboard (ICF Kaiser) emplea una solución de carbonato de sodio. La ecuación general es:



2.3.2.3. Procesos con alcanolaminas

Este tipo de proceso permite tratar selectivamente la eliminación de H_2S o la eliminación conjunta de H_2S y CO_2 con altas eficacias de eliminación.

El tratamiento con alcanolaminas es el método más comúnmente empleado para eliminar el ácido sulfhídrico de efluentes gaseosos, sobre todo en gases de refinería, y como método para purificar el gas natural (Jensen and Webb 1995b; Kohl and Nielsen 1997). Las alcanolaminas poseen un grupo hidroxilo en un extremo y un grupo amino en el otro. El grupo hidroxilo disminuye la presión de vapor e incrementa la solubilidad en agua, mientras que el grupo amino proporciona la alcalinidad requerida para la absorción de los gases ácidos. La adsorción se dirige típicamente a altas presiones con recuperación de calor. También se emplean soluciones de glycol, para mejorar la absorción física de los gases ácidos.

Algunos ejemplos de alcanolaminas empleadas en los lavadores son las siguientes: monoetanolamina (MEA), dietanolamina (DEA), diglicolamina (DGA), diisopropanolamida (DIPA) y metildietanolamina (MDEA).

2.3.3. Solventes físicos

Cuando los gases ácidos no son rentables de tratar con procesos como el anterior, se suelen emplear solventes físicos, donde los gases ácidos simplemente se absorben en el líquido y se desorben reduciendo la presión.

2.3.3.1. Agua

La absorción de gases ácidos en agua genera soluciones corrosivas que deben ser tratadas. La solubilidad del H_2S en agua vendrá dada por la constante de Henry.

2.3.3.2. Otros solventes físicos

Solventes como metanol, carbonato de propileno, éteres de polietileno, glicol, etc.

2.3.4. Procesos con membranas

Generalmente no se emplean membranas para el tratamiento selectivo de H_2S del biogás, pero esta siendo un proceso atractivo para aumentar la calidad de biogás.

2.4. ELIMINACIÓN DE H_2S MEDIANTE BIOFILTRACIÓN

La biofiltración no es la única tecnología empleada para la eliminación de H_2S . Muchos tipos de reactores con distintos tipos de microorganismos han sido estudiados como procesos alternativos para tratar efluentes contaminados con H_2S . Jensen and Webb (1995b) y Syed *et al.* (2006) han publicado unos excelentes reviews en los que recogen distintos métodos biológicos, entre los que se pueden encontrar reactores agitados discontinuos, realimentados o continuos, reactores con los microorganismos en suspensión o inmovilizados, incluso reactores de fototubos.

A continuación nos vamos a centrar en la eliminación de H_2S mediante biofiltración.

2.4.1. Microorganismos

El azufre existe en 9 estados de oxidación desde 6 hasta -2; sin embargo solo 3 estados de oxidación son abundantes en la naturaleza: -2 en forma de anión hidrosulfito (HS^-), 0 en

forma de azufre elemental (S^0) y 6 en forma de sulfato (SO_4^{2-}), estando en los océanos la mayor reserva de azufre en forma de sulfato inorgánico (Brüser *et al.*, 2000).

El azufre va cambiando de estado de oxidación en la naturaleza, debido a transformaciones tanto por procesos químicos, geológicos y biológicos. El ciclo biológico del azufre esta representado en la Figura 5 (Brüser *et al.*, 2000; Lomans *et al.*, 2002).

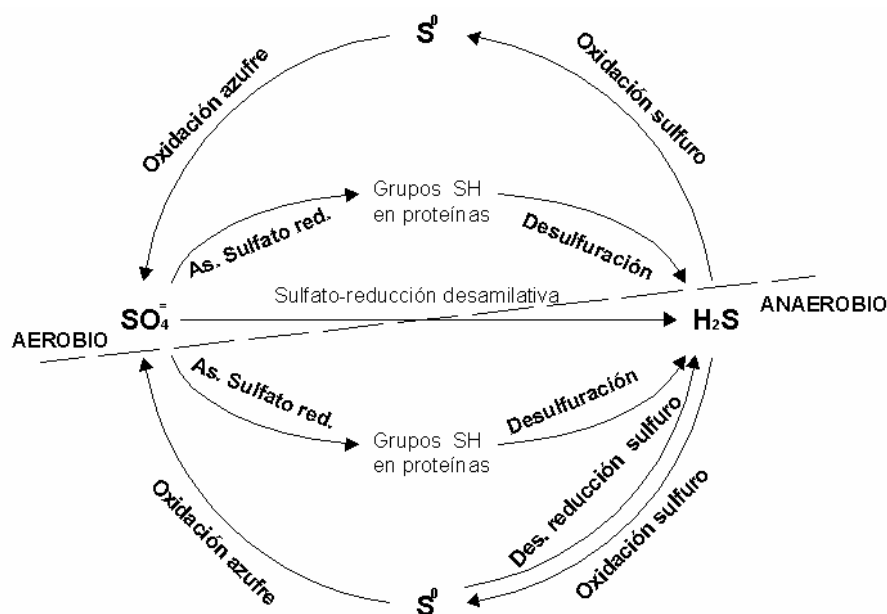


Fig 5: Ciclo biológico del azufre

La oxidación biológica del sulfuro de hidrógeno a sulfato es una de las reacciones principales del ciclo global del azufre. Los compuestos de azufre inorgánicos reducidos son oxidados exclusivamente por procariotas, siendo el sulfato el producto principal de la oxidación (Friedrich *et al.*, 2001). Las bacterias procariotas azufre oxidantes son filogenéticamente muy diversas, estando en el dominio Arquea restringida a los miembros del orden *Sulfolobales* (hypertermófilas) (Stetter *et al.*, 1990).

Existen bacterias procariotas azufre oxidantes tanto en condiciones alcalinas, neutras como ácidas. Las bacterias aerobias azufre oxidantes pertenecen a géneros como *Acidianus*, *Acidithiobacillus*, *Aquaspirillum*, *Aquifex*, *Bacillus*, *Beggiota*, *Methylobacterium*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Starkeya*, *Sulfolobus*, *Thermithiobacillus*, *Thiobacillus* y *Xanthobacter*, siendo muchas de ellas

termófilas. Las bacterias anaerobias azufre oxidantes son comúnmente neutrófilas y mesófilas, de géneros como *Allochromatium*, *Chlorobium*, *Rhodobacter*, *Rhodospseudomonas*, *Rhodovulum* y *Thiocapsa* (Friedrich *et al.*, 2001). *Choloribium limicola* (bacteria fotoautótrofa anaerobia) es capaz de oxidar H_2S a azufre elemental con presencia de CO_2 , luz y un medio con nutrientes inorgánicos (Syed *et al.*, 2003).

Brüser *et al.* (2000) realizan una comparación de las bacterias que son capaces de crecer litotróficamente en presencia de compuestos reducidos de azufre (Tabla 3).

Tabla 3.	Foto- trofia	Quimio- trofa	Auto- trofa	Oxidación de:				Producto
				HS^-	$S_2O_3^{2-}$	$S_4O_6^{2-}$	S^0	
EUBACTERIA								
Hydrogenobacter & relatives	–	+	O,T	–	+		+	SO_4^{2-}
Chlorobiaceae	+	–	O,T	+	+	–	+	SO_4^{2-}
Chloroflexaceae	+	+	F,H	+	–	–	–	S^0
α-Proteobacteria								
<i>Rhodobacter and relatives</i>	–	+	F,C	+	+	–	+	SO_4^{2-}
<i>Paracoccus versutus</i>	–	+	F,C	+	+	–	+	SO_4^{2-}
<i>Achidiphilium acidophilum</i>	–	+	F	+	–	+	+	SO_4^{2-}
<i>Thiobacillus novellus</i>	–	+	F,C		+	+	–	SO_4^{2-}
β-Proteobacteria								
<i>Thiobacillus thioparus</i>	–	+	O,C	+	+	+	+	SO_4^{2-}/S^0
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	–	+	O,C	+	+	+	+	SO_4^{2-}
<i>Thiobacillus aquaesulis</i>	–	+	O,C		+			SO_4^{2-}
<i>Thiomonas thermosulfatus</i>	–	+	F		+	+	+	SO_4^{2-}
<i>Thiomonas perometabolis</i>	–	+	F		+	+	+	SO_4^{2-}
<i>Thiomonas cuprinus</i>	–	+	F		–	–	+	SO_4^{2-}
<i>Thiomonas intermedius</i>	–	+	F,C	+	+	+	+	SO_4^{2-}
γ-Proteobacteria								
<i>Chromatiaceae</i>	+	+	F,C	+	+	–	+	SO_4^{2-}
<i>Ectothiorhodospiraceae</i>	+	+	F	+	+	–	+	S^0
<i>Beggiatoa</i>	–	+	F	+	+			SO_4^{2-}
<i>Thioploca</i>	–	+	F	+				SO_4^{2-}
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	–	+	O	+	+	+	+	SO_4^{2-}
<i>Acidithiobacillus caldos</i>	–	+	O		+			SO_4^{2-}
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	–	+	O,C	+	+	+	+	SO_4^{2-}

Tabla 3.	Foto- trofia	Quimio- trofa	Auto- trofa	Oxidación de:				Producto
				HS ⁻	S ₂ O ₃ ⁼	S ₄ O ₆ ⁴⁻	S ⁰	
<i>Thermithiobacillus tepidarius</i>	-	+	O	+	+	+	+	SO ₄ ⁼
<i>Halothiobacillus hydrothermalis</i>	-	+	O		+			SO ₄ ⁼
<i>Halothiobacillus halophilus</i>	-	+	O		+			SO ₄ ⁼
<i>Halothiobacillus neapolitanus</i>	-	+	O ₂ C	+	+	+	+	SO ₄ ⁼
<i>Thiomicrospira</i>	-	+	O ₂ C	+	+	+		SO ₄ ⁼
<i>Riftia symbiont</i>	-	+	O ₂ C	+				SO ₄ ⁼
<i>Achromatium</i>	-	+		+				SO ₄ ⁼
ε-Proteobacteria								
<i>Thiovulum</i>	-	+	O	+				SO ₄ ⁼
<i>Thiomicrospira denitrificans</i>	-	+	O ₂ C	+	+	+	+	SO ₄ ⁼
Cianobacteria								
<i>Oscillatoria</i>	+	-	O ₂ C	+	-	-	-	S ⁰
Bacterias Gram-positivas								
<i>Sulfobacillus</i>	-	+						SO ₄ ⁼
AQUEAS								
Crenarchaeota								
<i>Acidianus</i> y <i>Sulfolobus</i>	-	+	O/F ₂ C	+		+	+	SO ₄ ⁼

Tabla 3: Comparación de las bacterias que son capaces de crecer liototróficamente en presencia de compuestos reducidos de azufre

(+) Propiedad presente; (-) Propiedad ausentes; (F): Autótrofo facultativo; (O): Autótrofo obligado; (H) Vía hidroxipropionato; (T): Ciclo reductivo del ácido tricarboxílico; (C): Ciclo de Calvin.

Los microorganismos más utilizados para la oxidación de H₂S en sistema de biofiltración de gases son las bacterias del género *Acidithiobacillus* y *Thiobacillus*. Dentro de estos tipos encontramos bacterias acidófilas como *Acidithiobacillus thiooxidans* (Shinabe *et al.*, 1995; Cho *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2001; Sercu *et al.*, 2005b; Lee *et al.*, 2006), y neutrófilas como *Thiobacillus novellus* (Chung *et al.*, 1998), *Thiobacillus thioparus* (Tanji *et al.*, 1989; Cho *et al.*, 1991b; Cho *et al.*, 1992b; Park *et al.*, 1993; Chung *et al.*, 1996b; Chung *et al.*, 2000; Cox and Deshusses 2002; Oyarzun *et al.*, 2003) o *Thiobacillus denitrificans* (Ma *et al.*, 2006a; Ma *et al.*, 2006b)

Bacterias heterótrofas como *Xantomonas* sp. (Cho *et al.*, 1992b), *Pseudomonas putida* CH11 y *Arthrobacter oxidans* CH8 (Chung *et al.*, 1996b; Chung *et al.*, 2001; Chung *et al.*, 2004a) también han sido utilizadas en biofiltros para la oxidación de H₂S. Otras bacterias que han demostrado

una buena capacidad en la eliminación de TRS son del género *Hyphomicrobium* (Zhang *et al.*, 1991; Cho *et al.*, 1992b; Hirai *et al.*, 2001a; Sercu *et al.*, 2005b).

En la Tabla 4 se muestra un resumen, ordenado cronológicamente, de los tipos de microorganismos y soportes utilizados en biofiltración para la eliminación de ácido sulfhídrico.

Tabla 4: Soportes y microorganismos utilizados en sistema de eliminación de H₂S mediante biofiltración				
Referencia	Tipo²	Soportes	Inóculo	Compuestos
(Tanji <i>et al.</i> , 1989)	BTF	Anillos de propileno	<i>Th. Thioparus</i> TK-m	H ₂ S /MM DMS/NH ₃
(Hirai <i>et al.</i> , 1990)	BF	Turba	Lodo activo	H ₂ S /MM/DMS
(Cho <i>et al.</i> , 1991a)	BF	Turba	<i>Th. thioparus</i> DW44	H ₂ S /MM DMS/DMDS
(Cho <i>et al.</i> , 1991b)	BF	Turba	Lodo activo	H ₂ S /MM
(Zhang <i>et al.</i> , 1991)	BF	Turba	<i>Hyphomicrobium</i> sp. I55	H ₂ S /MM/DMS
(Cho <i>et al.</i> , 1992a)	BF	Turba	<i>Th. Thioparus</i> DW44 <i>Thiobacillus</i> sp. HA43 <i>Xantomonas</i> sp. DY44 <i>Hyphomicrobium</i> sp. I55	H ₂ S /MM/DMS
(Cho <i>et al.</i> , 1992b)	BF	Turba	<i>Th. thioparus</i> DW44	H ₂ S /DMDS DMS/NH ₃
(Park <i>et al.</i> , 1993)	BF	Turba	<i>Th. Thioparus</i> DW44	H ₂ S /MM/ DMS DMDS/ NH ₃
(Yang and Allen 1994a; Yang and Allen 1994b)	BF	Compost	Lodo activo	H ₂ S
(Shinabe <i>et al.</i> , 1995)	BF	Cerámica	<i>Th. Thiooxidans</i> KS1	H ₂ S /MM
(Chung <i>et al.</i> , 1996b)	BF	Alginato de calcio	<i>Th thioparus</i> CH11	H ₂ S
(Chung <i>et al.</i> , 1996a)	BF	Alginato de calcio	<i>Pseudomonas putida</i> CH11	H ₂ S
(Chung <i>et al.</i> , 1997a)	BTF	Alginato de calcio	<i>Thiobacillus</i> sp. CH11	H ₂ S
(Morton and Caballero 1997)	BTF	Roca Volcánica Plástico BIOdek 7 Plástico Jaeger Nupac7	Lodo activo	H ₂ S

² BTF: Biofiltro de escurrimiento; BL: Biolavador; BF: Biofiltro; HBTF: Biofiltro de escurrimiento horizontal

Tabla 4: Soportes y microorganismos utilizados en sistema de eliminación de H₂S mediante biofiltración

Referencia	Tipo ²	Soportes	Inóculo	Compuestos
(Nishimura and Yoda 1997)	BL	-	Lodo activo	H ₂ S
(Chung <i>et al.</i> , 1998)	BF	Alginato de calcio	<i>Th. novellus</i> CH3	H ₂ S
(Wani <i>et al.</i> , 1998)	BF	Compost/perlita/astillas de madera	Lodo activo	H ₂ S
(Chitwood <i>et al.</i> , 1999)	BTF BF	Roca volcánica Astillas de madera	Lodo activo	H ₂ S VOC
(Shojaosadati and Elyasi 1999)	BF	Compost	Lodo activo	H ₂ S
(Wani <i>et al.</i> , 1999)	BF	Compost/perlita/astillas de madera	Lodo activo	H ₂ S/DMDS DMS
(Cho <i>et al.</i> , 2000)	BF	Roca volcánica	<i>Th. Thiooxidans</i> AZ11	H ₂ S
(Devinny and Chitwood 2000)	BTF BF	Roca volcánica Astillas de madera	Lodo activo	H ₂ S VOC
(Elías <i>et al.</i> , 2000)	BF	Compost	-	H ₂ S
(Koe and Yang 2000)	BTF	Anillos de propileno	<i>Thiobacillus sp.</i>	H ₂ S
(Shinabe <i>et al.</i> , 2000)	BTF	Cerámica	Lodo activo	H ₂ S /MM
(Hartikainen <i>et al.</i> , 2001)	BF	Turba	<i>Thiobacillus strain</i> TJ330	H ₂ S / CS ₂
(Hirai <i>et al.</i> , 2001a)	BF	Cerámica Cristobalita calcinada Obsidia calcinada Suelo calcinado	Lodo activo (<i>Thiobacillus sp.</i> , <i>Hyphomicrobium sp</i> y hongos)	H ₂ S
(Ruokojärvi <i>et al.</i> , 2001)	BTF	Cerámica porosa	Lodo activo	H ₂ S/MM/DMS
(Wu <i>et al.</i> , 2001)	BTF	Anillos de propileno	<i>At. thiooxidans</i>	H ₂ S
(Pinjing <i>et al.</i> , 2001)	BF	Alginato de calcio	Lodo activo	H ₂ S/MM
(Cox and Deshusses 2002)	BTF	Anillos de propileno	<i>Th. thioparus</i> TK-m	H ₂ S/Tolueno
(Elias <i>et al.</i> , 2002)	BF	Compost	-	H ₂ S
(Gabriel and Deshusses 2003)	BTF	Espuma de poliuretano	Lodo activo	H ₂ S
(Li <i>et al.</i> , 2003)	BF	Compost astillas madera	Lodo activo	H ₂ S /MM DMS/DMDS
(Oyarzun <i>et al.</i> , 2003)	BF	Turba	<i>Th. Thioparus</i> ATCC 23645	H ₂ S
(Ng <i>et al.</i> , 2004)	BF	Carbón activo	Lodo activo (<i>Thiomonas sp.</i>)	H ₂ S
(Gabriel <i>et al.</i> , 2004)	BTF	Plastico Tripack Jeger Espuma de poliuretano	Lodo activo	H ₂ S
(Lee <i>et al.</i> , 2005)	BTF	Cerámica	<i>At. thiooxidans</i> ATS	H ₂ S / NH ₃
(Jin <i>et al.</i> , 2005a)	BTF	Anillos de propileno	Lodo activo	H ₂ S
(Jin <i>et al.</i> , 2005b)	BTF	Anillos de propileno	Lodo activo	H ₂ S

Tabla 4: Soportes y microorganismos utilizados en sistema de eliminación de H ₂ S mediante biofiltración				
Referencia	Tipo ²	Soportes	Inóculo	Compuestos
(Jones <i>et al.</i> , 2005)	BF	Astillas madera Medio comercial	-	H ₂ S
(Sercu <i>et al.</i> , 2005a)	BTF	Anillos de propileno	<i>At. thiooxidans</i> ATCC19377 <i>Hyphomicrobium</i> VS	H ₂ S /DMS
(Duan <i>et al.</i> , 2005)	HBTF	Carbón activo	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> (aislado lodo activo)	H ₂ S
(Potivichayanon <i>et al.</i> , 2006)	BTF	Anillos de propileno	<i>Acinetobacter</i> sp. MU1_03 <i>Alcaligenes faecalis</i> MU2_03 Cultivo mixto	H ₂ S
(Ma <i>et al.</i> , 2006a)	BF	Turba con musgo Astilla madera Cerámica Carbón activo granular	<i>Thiobacillus denitrificans</i> (aislado suelo azufrado)	H ₂ S
(Ma <i>et al.</i> , 2006b)	BF	Carbón activo granular	<i>Thiobacillus denitrificans</i> (aislado suelo azufrado)	H ₂ S
(Lee <i>et al.</i> , 2006)	BF	Cerámica	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> AZ11	H ₂ S
(Morgan-Sagastume and Noyola 2006)	BF	Compost	-	H ₂ S
(Chang 2006)	BTF	Triacetato de celulosa	Lodo activo	H ₂ S
(Sercu <i>et al.</i> , 2006)	BF	Compost	- (<i>Thiobacillus thioparus</i>)	H ₂ S
(Duan <i>et al.</i> , 2006)	BF	Carbón activo	Lodo activo	H ₂ S
(Duan <i>et al.</i> , 2007)	BTF	Carbón activo Esferas vidrio	Bacteria azufre oxidante	H ₂ S
(Kim <i>et al.</i> , 2007a)	BF	Alginato de sodio y polivinil alcohol	Lodo activo	H ₂ S
(Datta <i>et al.</i> , 2007)	BTF	Comercial (NOVAINET®)	Bacterias aisladas de Lagunas termales	H ₂ S

En el tratamiento de un efluente gaseoso, la selección del tipo de microorganismo es un factor muy importante, y aunque una gran cantidad de biofiltros han sido inoculados con lodos activos, presentan el inconveniente de su largo período de aclimatación para comenzar a trabajar adecuadamente (Ottengraf and Van den Oever 1983). Park *et al.* (2001) trabajaron con un biofiltro de escurrimiento relleno de una cerámica porosa inoculada con un lodo activo y necesitaron un período de aclimatación de 28 días; asimismo, otro biofiltro de escurrimiento relleno con anillos de propileno e inoculado con un lodo activo requirió un periodo de 22 días

de aclimatación (Cox and Deshusses 2002). Una solución para reducir estos tiempos es la inoculación con especies puras, ya que disminuye o anula la fase de aclimatación obteniéndose unas altas capacidades de eliminación (Devinny *et al.*, 1999).

2.4.2. Soportes utilizados en la eliminación de H₂S

En los biofiltros (BF) el soporte más utilizado es el compost y la turba, aunque algunos autores añaden otros materiales como perlita y/o astillas de madera para intentar evitar los fenómenos de compactación del lecho (Wani *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2003; Jones *et al.*, 2004). El carbón activo como soporte ha demostrado tener un buen comportamiento, realizándose en los últimos años muchos estudios (Ng *et al.*, 2004; Duan *et al.*, 2005; Duan *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2006a; Ma *et al.*, 2006b; Duan *et al.*, 2007); el uso de este tipo de soporte permite la combinación de la eliminación por absorción física y por degradación biológica, de forma que se pueden conseguir buenos resultados en aquellos efluentes en los que se presenten picos de concentración, ya que se elimina por absorción física siendo luego degradado por el microorganismo.

La utilización de biolavadores es muy escasa, ya que dada la baja solubilidad en agua del H₂S no es recomendable su utilización; sin embargo, algunos investigadores han llegado a eliminar más del 99% del H₂S procedente de un digestor anaerobio con una concentración de entrada de 2000 ppmv y un caudal de 40 m³h⁻¹ (Nishimura and Yoda 1997), aunque frente a este elevado porcentaje de eliminación se encuentra una baja capacidad de eliminación (0,185 gS m⁻³ h⁻¹), ya que utiliza un tanque de 550 m³.

En los biofiltros de escurrimiento los soportes mas utilizados son los anillos de propileno, cerámicas y rocas volcánicas (Tabla 4), aunque también hay estudios realizados con espuma de poliuretano.

Loy y Flauger (1996) degradaron estireno en un biofiltro relleno de espuma de poliuretano, logrando eliminar el 100% con cargas por debajo de 25 g m⁻³ h⁻¹. Moe e Irvine (2000) utilizaron espuma de poliuretano en un biofiltro inoculado con un lodo activo para eliminar tolueno, trabajando con tiempos de residencia de 1 a 4 minutos y concentraciones entre 50 y 200 ppmv, obteniendo eliminaciones mayores del 99%. Hori *et al.* (2001) aislaron

Acitenobacter *genospecies* de un lodo activo y las inmovilizaron en espuma de poliuretano, llegando a una capacidad de eliminación de tolueno de $6,5 \text{ g kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ en un BTF. Kim *et al.* (2002b) utilizaron cubos de espumas mezclados con polvo de carbón activo y zeolita e inoculados con lodo activo para eliminar amoníaco en un biofiltro, obteniendo eficiencias del 90% a concentraciones de 150 ppmv y con tiempos de residencia de 23 segundos, alcanzando una cantidad de biomasa inmovilizada de $1,58 \cdot 10^9 \text{ cell (g soporte)}^{-1}$. Gabriel *et al.* (2003; 2004) utilizaron espuma de poliuretano para eliminar ácido sulfhídrico en un BTF trabajando con tiempos de residencia menores de 3 segundos. Partieron de un inóculo procedente de un lodo activo y llegaron a una capacidad máxima de eliminación de $40,37 \text{ gS m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (65% de eficacia) y de $29,18 \text{ gS m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (94% de eficacia). Igualmente ha sido empleada para construir un biofiltro de escurrimiento diferencial para la validación de un Modelo y ver cuáles son los límites en la degradación de H_2S , al poder trabajar con tiempos de residencia muy bajos menores de 0,01 segundos (Kim and Deshusses 2003; Kim and Deshusses 2005). La espuma de poliuretano ha mostrado ser un soporte con unas grandes ventajas para este tipo de sistemas, ya que tiene una elevada superficie específica ($600 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$) y una alta porosidad ($>95\%$), lo que proporciona una baja pérdida de carga, además de su bajo coste y sus buenas propiedades mecánicas (Devinny *et al.*, 1999).

2.4.3. Resultados obtenidos en la eliminación de H_2S

En las experiencias realizadas, además de estudiar la capacidad de eliminación de H_2S , muchos autores han estudiado el efecto que tienen otros compuestos, que normalmente acompañan a éste en los efluentes industriales, sobre la capacidad de eliminación. La mayoría de estos compuestos son MM, DMS, DMDS, CS_2 , NH_3 ...ya sea en trazas o en cantidades mucho mayores.

Si la corriente además de H_2S contiene NH_3 , se puede lograr la eliminación de este compuesto mediante la biooxidación a nitrito y/o nitrato por bacterias oxidantes de amonio presentes en los lodos activos (Park *et al.*, 2001; Malhautier *et al.*, 2003a), o inoculadas de cultivos aislados como *Arthrobacter oxydans* (Chung *et al.*, 2001; Chung *et al.*, 2004b) o de cepas

de colección como *Nitrosomonas europaea* ATCC 49718 (Chung *et al.*, 2000). Este campo de trabajo será profundizado en el apartado 2.8 de la presente Tesis.

Otra forma de eliminar este compuesto es mediante reacción química con el sulfato procedente de la biooxidación de los TRS, formándose sulfato amónico (Tanji *et al.*, 1989; Cho *et al.*, 1992b; Park *et al.*, 1993; Kim *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2005).

Otros compuestos que normalmente se encuentran junto con el H_2S , son los compuestos órgano sulfurados (MM, DMS y DMDS, principalmente). Los compuestos órgano sulfurados se degradan en primer lugar hasta H_2S , y luego son oxidados a sulfato (Smet *et al.*, 1998), siendo este último paso la etapa productora de energía en la biodegradación (Figura 6).

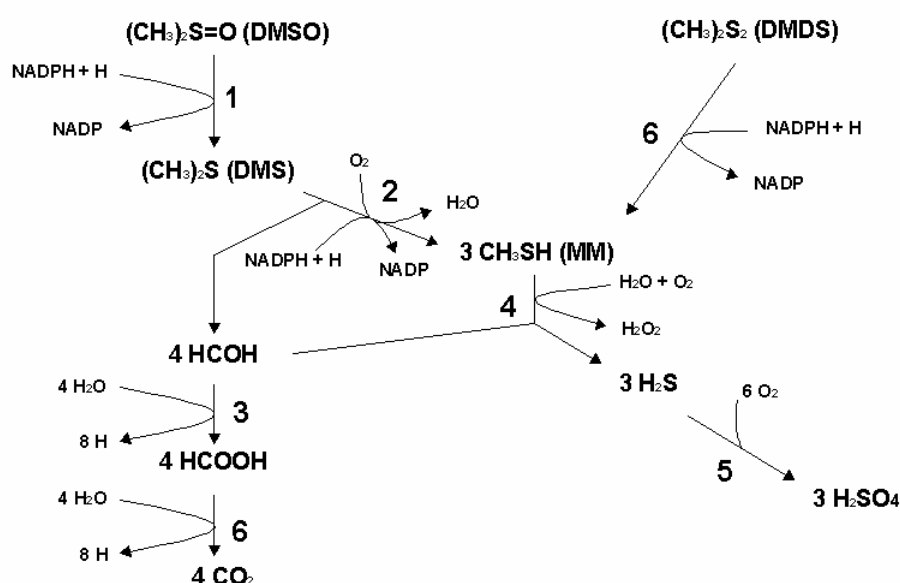


Fig 6. Pasos metabólicos para la degradación de DMDS, DMS, MM y H_2S en especies de *Thiobacillus* y *Hyphomicrobium*. (Kelly and Smith 1990)

En la bibliografía aparecen numerosas citas en las que se enuncia el hecho de que la velocidad de degradación del H_2S es siempre mayor que la del resto de los TRS. Así, por ejemplo, para el caso de *Thiobacillus thioparus* DW44 el orden de degradación es:

$H_2S > MM \geq DMDS > DMS$ (Cho *et al.*, 1991a), igualmente para *Hyphomicrobium* sp I55 se da una mayor velocidad de degradación del H_2S que del resto de los TRS (Zhang *et al.*, 1991).

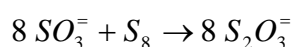
Para evitar estos inconvenientes algunos autores han propuesto realizar una biofiltración en dos etapas, eliminando en el primer biofiltro el H_2S y en un segundo el resto de TRS (Chitwood *et al.*, 1999; Devinny and Chitwood 2000; Pinjing *et al.*, 2001; Ruokojärvi *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2003; Sercu *et al.*, 2005a). Los resultados obtenidos demuestran que es una buena técnica para lograr eliminar compuestos órgano sulfurados y VOCs cuando se hayan en presencia de H_2S .

El sulfato y el azufre son los productos principales de la biooxidación del ácido sulfhídrico. El azufre elemental genera un gran problema, ya que al acumularse en el biofiltro aumenta la pérdida de carga, también puede llegar a obturar conducciones, generar problemas en el sistema de bombeo etc.; por tanto, es preferible la oxidación total hasta sulfato; aunque éste también genera problemas en el biofiltro ya que es un producto inhibitorio que puede hacer disminuir mucho la eficacia del proceso (Yang and Allen 1994a).

Eliminar el azufre del soporte es muy complicado, pero se ha demostrado que cuando se disminuye la concentración de H_2S el microorganismo puede oxidar el azufre a sulfato, disminuyendo así su concentración en el soporte. Según Buisman *et al.* (1990) en el proceso de oxidación del H_2S , en una primera etapa, el H_2S pierde dos electrones y se forma azufre sobre la membrana de la bacteria; en una segunda etapa este azufre es oxidado a sulfito y después a sulfato, según las reacciones que se detallan a continuación:



El sulfito mediante reacción química con el azufre puede formar tiosulfato según la reacción (Kelly 1999b):



El tiosulfato a su vez puede ser oxidado por distintas vías (Kelly *et al.*, 1997). Kelly (2003) recoge en este trabajo los distintos pasos metabólicos desde los primeros estudios de los años sesenta hasta la actualidad.

Por tanto, el azufre es un producto intermedio en la oxidación del H_2S a sulfato. En la bibliografía, podemos encontrar varios ejemplos que demuestran que el azufre es un compuesto intermedio en la oxidación del H_2S , y cuando se da una baja concentración de H_2S el microorganismo empieza a oxidar el azufre a sulfato (Cho *et al.*, 1991a; Zhang *et al.*, 1991; Duan *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2005b).

En cuanto al sulfato, la mayoría de los autores para disminuir su concentración en los BTF realizan una reposición del medio de recirculación, ya sea de forma continua o en discontinuo, reemplazando una cierta proporción del medio una vez alcanzada una concentración de sulfato. La reposición del medio también es necesaria para asegurar el aporte de micronutrientes esenciales en el metabolismo de la biomasa.

Así, Tanji *et al.* (1989) cuando la concentración de sulfato del medio de recirculación superó los 5 g l^{-1} , realizaron la reposición de $\frac{3}{4}$ partes del medio por medio fresco para evitar fenómenos de inhibición. Koe and Yang (2000) mantuvieron una concentración de sulfato entre 2 y 5 g l^{-1} para evitar la inhibición; y Jin *et al.* (2005a) encontraron que una concentración mayor de $1,9 \text{ g l}^{-1}$ producía efectos inhibitorios a pH bajos. Ruokojärvi *et al.* (2001) y Sercu *et al.* (2005b), establecieron un límite más alto de 15 g l^{-1} .

En los BF se produce una acumulación del sulfato en el soporte, por lo que se hace necesario un lavado del soporte. Yang and Allen (1994a) encuentran que una concentración de sulfato mayor de 25 mgS g^{-1} de compost inhibe la eliminación de H_2S . Jones *et al.* (2005) realizaron un estudio de la inhibición del sulfato en un BF añadiendo sulfato al soporte en concentraciones de 40, 65 y 100 mgS g^{-1} de soporte. Añadiendo 100 mgS g^{-1} de sulfato no encontraron una disminución de la eficacia de eliminación a pH en el rango 6,8-8,5, sólo se daba el efecto inhibitorio del sulfato a pH bajos. La eficacia disminuyó del 82,3% a pH 8 al 26% a pH 2. Estos autores postularon que la transferencia de masa del sulfato de la fase líquida a la biopelícula no parece inhibir la eliminación de H_2S , debiéndose la disminución de la eficacia a altas cargas de H_2S o a la precipitación de azufre; igualmente sugirieron que se podrían soportar mayores concentraciones de sulfato con una biopelícula más gruesa y robusta, desarrollada sobre un soporte con un tamaño de partícula mayor que evitase la acumulación de especies sulfuradas.

En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos en la eliminación de H_2S utilizando biofiltros de escurrimiento. Todos los valores de ésta Tabla han sido convertidos a las mismas unidades para poder comparar; así mismo, algunos de estos datos no son suministrados directamente por los autores, por lo que se han calculado en función de los datos suministrados en cada estudio.

El rango de tiempo de residencia del gas (EBRT) es muy variable, y siempre interesa trabajar con el menor tiempo de residencia posible, para tener un biofiltro lo más pequeño disminuyendo los costes. El menor EBRT de trabajo es el obtenido por Gabriel *et al.* (2003; 2004), que trabajaron en un rango de 1,15 a 2,3 segundos, igual al tiempo de residencia de los scrubbers químicos.

El rango de concentraciones también es variable, aunque normalmente son menores de 200 ppmv. Hay autores que trabajan con efluentes de plantas de tratamiento de aguas, compostaje, etc (Morton and Caballero 1997; Chitwood *et al.*, 1999; Devinny and Chitwood 2000; Koe and Yang 2000; Park *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2001; Gabriel and Deshusses 2003; Gabriel *et al.*, 2004) y otros investigadores lo generan artificialmente por reacción química entre HCl y Na_2S , diluyendo el H_2S generado con aire, o trabajan con botellas de gases licuados.

La capacidad máxima de eliminación alcanzada en un BTF es de $810 \text{ g S m}^{-3}\text{h}^{-1}$ por Lee *et al.* (2005) que trabajaron con un biofiltro inoculado con *Thiobacillus thiooxidans* inmovilizado sobre un soporte cerámico, aunque en la mayoría de los trabajos las capacidades máximas de eliminación son mucho menores.

Un trabajo muy interesante es el realizado recientemente por Datta *et al.* (2007). Realizan un estudio de eliminación de H_2S a altas temperaturas de 40, 50, 60 y 70°C , obteniendo muy buenos resultados. Con la comunidad bacteriana aislada se podrían tratar efluentes de la industria del papel en la que los efluentes gaseosos están a unas temperaturas sobre 40°C .

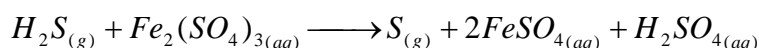
Compuestos	Relleno	Inóculo	EBRT s	[H ₂ S] ppmv (30°C)	R (H ₂ S) %	EC (H ₂ S) gS m ⁻³ h ⁻¹	Referencia
H ₂ S/MM DMS/NH ₃ H ₂ S	Anillos de propileno	<i>Th. Thioparus</i> TK-m	2,6 (2,6-15,5)	39 (7-66)	95	22	(Tarij et al., 1989)
	Roca Volcánica	Lodo activo	15-30	71 (45-390)	99	21,65	(Morton and Caballero 1997)
	Plástico Jaeger Nupac7			45	92	9,62	
	Alginato de calcio			54	94	11,84	
H ₂ S H ₂ S/VOC	Roca volcánica (BTF)	<i>Thiobacillus</i> sp. CH11	56-70	60	99,5	4,0	(Chung et al., 1997)
	Astillas de madera (BF)	Lodo activo	36	0,43 (0,01-30)†	96,6	0,06	(Chitwood et al., 1999)
H ₂ S/VOC	Roca volcánica (BTF)	Lodo activo	32,6	11	99	1,46	
	Astillas de madera (BF)		22,2	1,6 (0,01-30)†	93,8	0,22	(Devinny and Chitwood 2000)
			12,1	3,0	98,4	0,43	
			29,5	12,1	91	1,46	
H ₂ S	Anillos de propileno	<i>Thiobacillus</i> sp.	5	5†	99	4,59	(Koe and Yang 2000)
			16 (10-16)	92	99	84,71	
H ₂ S /MM H ₂ S/MM/DMS	Cerámica	Lodo activo	338	338	98,5	152,0	(Shinabe et al., 2000)
	Cerámica porosa	Lodo activo	61-132)	-	99,8	42,0	(Ruokojärvi et al., 2001)
							(Wu et al., 2001)
H ₂ S	Anillos de propileno	<i>At. thiooxidans</i>	5-30	150†	68	94,6	
				20	90	16,7	
H ₂ S/Tolueno	Anillos de propileno	<i>Th. thioparus</i> TK-m	36	170†	91,3	20,0	(Cox and Deshusses 2002)
H ₂ S	Espuma de poliuretano	Lodo activo	(1,6-2,3)	31 (0,1-100)†	97	89,4	(Gabriel and Deshusses 2003)
				34	80	98,8	
H ₂ S	Plástico Tipack Jeger	Lodo activo	2,29	6	17	2,03	(Gabriel et al., 2004)
	Espuma de poliuretano		1,15	16	65	40,37	
H ₂ S / NH ₃ H ₂ S	Cerámica	<i>At. thiooxidans</i> ATS	36 (5,63-36)	900 (50-900)†	100	810	(Lee Eun et al., 2005)
	Anillos de propileno	Lodo activo	30,9 (26,5-37,1)	55†	99	8,16	(Jin et al., 2005a)
			37,1	170	88,6	22,59	
H ₂ S	Anillos propileno	Lodo activo	24,24	158†	97	29,29	(Jin et al., 2005b)
H ₂ S /DMS	Anillos de propileno	<i>At. thiooxidans</i> ATCC19377	120 (30-120)	2000	97	78,12	(Sercu et al., 2005)
		<i>Hyphomicrobium</i> VS					
H ₂ S	Anillos de propileno	<i>Acinetobacter</i> sp. MU1_03	12,72	20	70	5,09	(Potivichayanon et al., 2006)
		<i>Alcaligenes faecalis</i> MU2_03	25,45	20	70	2,54	
		Cultivo mixto	50,89	20	91	1,65	
H ₂ S	Triacetato de celulosa	Lodo activo	320 (80-1305)	10 (10-45)	90	8,23	(Chang 2006)
H ₂ S	Carbón activo	Bacteria azufre oxidante	4	45	30	15,94	(Duan et al., 2007)
	Esferas vidrio						
H ₂ S	Comercial (NOVAINET®)	Bacterias aisladas de Lagunas termiales	60 (15-60)	841	61	40,0	(Datta et al., 2007)

Tabla 5. Datos de eliminación de H₂S en biofiltros de escurrimiento.† T^a no suministrada

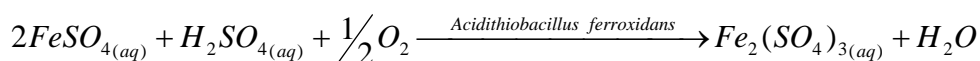
2.5.ELIMINACIÓN DE H₂S MEDIANTE PROCESOS COMBINADOS

2.5.1. Eliminación de H₂S por absorción en Fe₃(SO₄)₂ y recuperación del reactivo mediante un reactor biológico

Este proceso se aplica fundamentalmente para la desulfuración del biogás (Jensen and Webb 1995b; Pagella *et al.*, 1996). El proceso básico consiste en poner en contacto, en una torre de lavado (absorbedor), una disolución de sulfato férrico, en contracorriente, con el biogás que contiene H₂S. La disolución absorbe el ácido sulfhídrico del gas y lo oxida a azufre elemental, reduciéndose el sulfato férrico a ferroso, de acuerdo con la siguiente ecuación química global:



En una segunda etapa (biológica) se realiza la oxidación del sulfato ferroso a férrico por *Acidithiobacillus ferrooxidans* según la siguiente ecuación:



La disolución oxidada que resulta en esta etapa biológica, puede utilizarse nuevamente en la etapa de absorción, minimizando, por tanto, el consumo del oxidante, consiguiendo que sea económicamente viable el sistema. En la Figura 7 se representa esquemáticamente el proceso.

Numerosas configuraciones de reactores y estudios para mejorar la velocidad de oxidación de sulfato ferroso a sulfato férrico han sido investigados (Jensen and Webb 1995a; Mesa *et al.*, 2002). Un excelente review que describe los modelos utilizados ha sido publicado por Nemati *et al.* (1998).

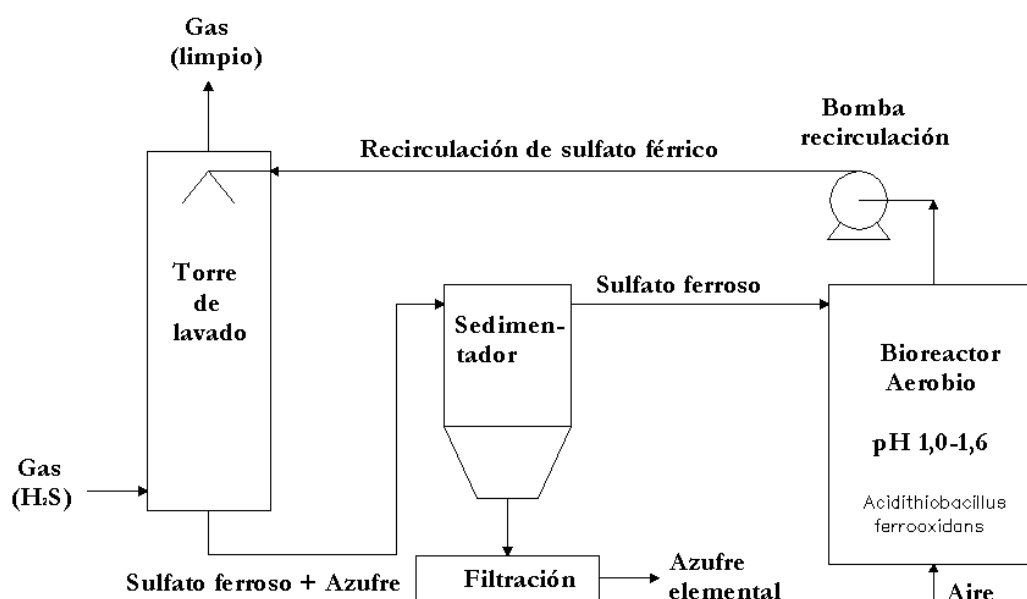
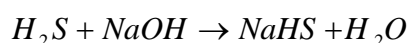


Fig 7. Esquema simplificado proceso eliminación de H_2S con $Fe_3(SO_4)_2$ y recuperación del reactivo mediante un reactor biológico

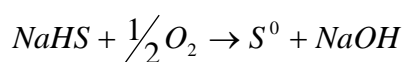
2.5.2. Proceso Shell-Paques THIOPAQ™ de desulfurización

Consiste en un proceso también combinado físico-químico y biológico. Igualmente consta de dos etapas; en una primera etapa se realiza una absorción del H_2S en una torre de lavado con una solución alcalina, seguida de una oxidación biológica del H_2S absorbido hasta azufre elemental.

La reacción química de absorción que ocurre en la torre de lavado es:



Durante la absorción se consume sosa, el efluente líquido compuesto de NaHS en disolución es oxidado en un reactor biológico aerobio según la siguiente reacción:



En la Figura 8 se muestra un esquema simplificado del sistema THIOPAQ.

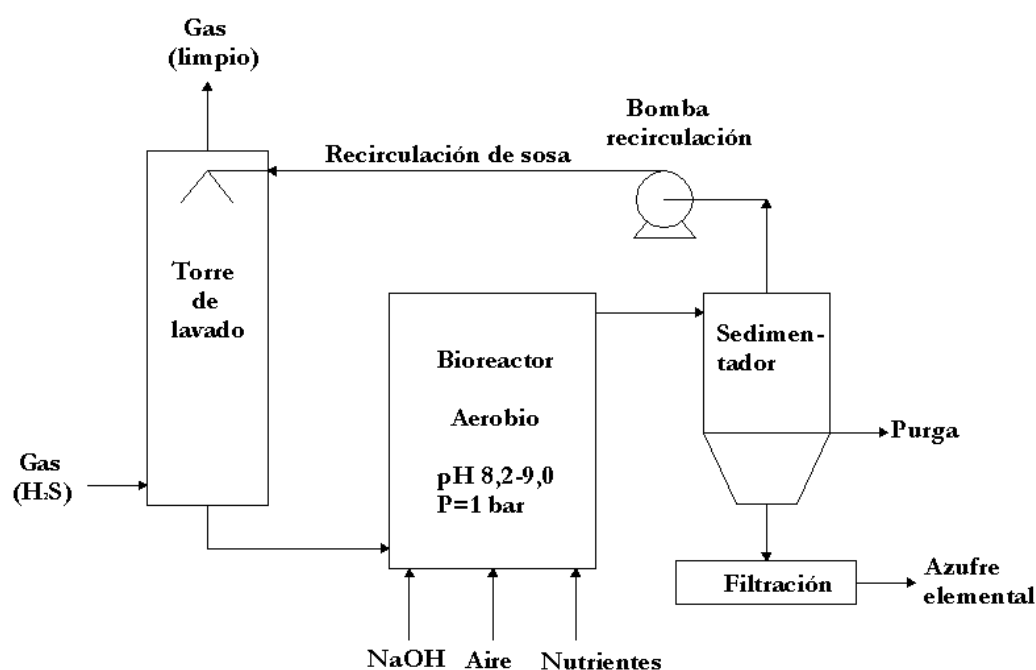


Fig 8. Esquema simplificado proceso THIOPAQ.

El producto final es el azufre elemental, siendo tan sólo menos del 5% oxidado hasta sulfato, la solución alcalina no es totalmente regenerada en el reactor biológico, por lo que es necesaria la adición de sosa para mantener el pH sobre 8,2. Según la información que facilita la empresa que ha desarrollado la tecnología se trata de bacterias del género *Thiobacillus* (Cline *et al.*, 2003). Recientemente Sorokin *et al.* (2007) han aislado de un bioreactor THIOPAQ en Eerbeek (Países Bajos) una nueva bacteria anaerobia (*Desulfurispirillum alkaliphilum*), que utiliza azufre como aceptor de electrones y acetato como fuente de carbono, describen que el reactor trabaja en condiciones limitantes de oxígeno y condiciones alcalinas.

2.6. AMONIACO

El amoníaco (NH_3) es un gas incoloro, tóxico, reactivo y corrosivo con un olor picante desagradable (Busca and Pistarino 2003).

2.6.1. Propiedades

En el siguiente listado se detallan algunas de las propiedades físico-químicas más importantes (Cheremisinoff 1999; Perry *et al.*, 2001; Carson and Mumford 2002; ICSC 2003b).

- N° CAS: 7664-41-7
- Fórmula: NH_3
- Peso molecular: 17,03
- Punto de ebullición: $-33,4^\circ\text{C}$
- Punto de fusión: $-77,7^\circ\text{C}$
- Presión de vapor a 20°C : 8,6 bar
- Coeficiente de Henry a 25°C $(\text{mol m}^{-3})_{\text{aire}}/(\text{mol m}^{-3})_{\text{agua}}$: 0,00089
- Solubilidad en agua (g/100ml): 89,5 g (0°C); 52,9 g (20°C)
- Densidad relativa del gas (aire=1): 0,6
- Densidad relativa del líquido (agua=1): 0,7
- Temperatura de autoignición: 651°C
- Límites de explosividad (% en volumen en el aire): 15 – 28
- Constante de disociación a 25°C : $\text{pK}_a=9,259$
- Factor de conversión: $1 \text{ ppmv}=0,70 \text{ mg/m}^3$ (25°C)

En un estudio reciente sobre los límites de detección e irritación del amoníaco, se ha fijado el límite de detección en 2,6 ppmv y el límite de irritación en 31,7 y 60,9 ppmv mediante un método estático y dinámico respectivamente (Smeets *et al.*, 2007).

Los valores límites de exposición ambiental según la ACGIH para el NH_3 son de 25 ppmv (17 mg m^{-3}) para el TLV-TWA y de 35 ppmv (24 mg m^{-3}) para el TLV-STEL (ICSC 2003b). En España, según el INSHT, el valor del VLA-ED de 20 ppmv (14 mg m^{-3}) y el VLA-EC de 50 ppmv (36 mg m^{-3})³.

³ <http://www.mtas.es/insht/practice/vla1.htm>

2.6.2. Fuentes

Una considerable cantidad de NH_3 es liberado por procesos industriales como las refinerías de petróleo, industrias metalúrgicas, industrias de alimentos y textiles, plantas de tratamiento de residuos y plantas de compostaje (Busca and Pistarino 2003). En explotaciones ganaderas de Taiwán las emisiones de amoníaco son del rango de 10 a 60 ppmv (Chung *et al.*, 1996c), mientras que en plantas de compostaje de residuos se han medido concentraciones de hasta 270 mg m^{-3} (332 ppmv a 30°C) (Smet *et al.*, 2000) y en plantas de compostaje de lodo de hasta 700 mg m^{-3} (1023 ppmv a 30°C) (Haug 1993).

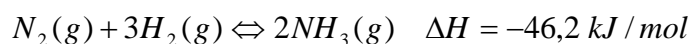
Las emisiones antropogénicas de amoníaco son de 43 millones de toneladas de nitrógeno por año, que equivalen aproximadamente al 55% del total ($\text{NH}_3 + \text{NO}_x + \text{N}_2\text{O}$). Del total de éstas tres especies, la mayor fuente con diferencia es la agricultura (50%), seguida de las fuentes móviles y estacionarias de combustión de las fuentes fósiles (20% cada una), y por último, la quema de biomasa (10%) (Krupa 2003).

En España en el año 2003, las emisiones atmosféricas de amoníaco por todas las actividades económicas fueron de 392089 toneladas (INE 2007).

El amoníaco como contaminante en el aire tiene un papel importante en la lluvia ácida y la eutrofización. Por tanto, el control de las emisiones de amoníaco es esencial para la protección del medio ambiente y la salud pública (Krupa 2003).

2.6.3. Usos

El amoníaco es el segundo producto químico sintético. Más del 90 % del consumo mundial es fabricado a partir del nitrógeno y el hidrógeno por un proceso catalítico desarrollado por Fritz Haber y Carl Bosch, que usa un catalizador promovido de hierro:



En 1997 el 85% de la producción mundial de amoníaco fue empleada para la fabricación de fertilizantes (urea y nitrato de amonio fundamentalmente). El empleo industrial de amoníaco está alrededor del 15%. Un uso importante del nitrógeno contenido en el amoníaco, en parte después de la conversión al ácido nítrico, es la producción de plásticos y fibras, como poliamidas, resinas urea-formaldehído-fenol, poliuretanos y poliacrilonitrilo. Otro uso es la

fabricación de explosivos, hidracina, aminas, amidas, nitrilos y otros compuestos orgánicos nitrogenados, que sirven como intermedios para tintes y productos farmacéuticos.

Los productos inorgánicos principales son el ácido nítrico, el nitrato de sodio, el cianuro de sodio, el cloruro de amonio, y el bicarbonato de amonio. La producción de urea consumió aproximadamente el 40 % del amoníaco producido en 1995 (Wiley-VCH 2002).

2.6.4. Efectos sobre la salud

Las exposiciones a amoníaco causan principalmente irritación en las mucosas, obteniendo como resultado una sensación de quemazón en los ojos, nariz y garganta; esta sensación se puede producir a concentraciones muy bajas, desde 50 hasta 100 ppmv (Busca and Pistrano, 2003). A concentraciones de 400 ppmv la irritación es inmediata, sobre 1500 ppmv produce tos y a 2500 ppmv es una amenaza para la vida (Helmers *et al.*, 1971; Ferguson *et al.*, 1977).

2.7. ELIMINACIÓN DE NH_3 MEDIANTE PROCESOS FÍSICO-QUÍMICOS

2.7.1. Incineración térmica

La oxidación de amoníaco a NO y N_2O está muy favorecida termodinámicamente y se trata de reacciones muy exotérmicas, aunque la oxidación paralela de NH_3 a N_2 es incluso más exotérmica y favorable termodinámicamente. También las reacciones del NH_3 con el NO formado dan N_2 , siendo reacciones también favorecidas termodinámicamente (Tabla 6).

	Reacción	$\Delta H^\circ_{298} \text{ (kJ)}$	$\Delta G^\circ \text{ (kJ)}$
1	$\text{N}_2 + \text{O}_2 \leftrightarrow 2 \text{NO}$	180,6	$180,6 + 25,2 T$ para $T < 1500 \text{K}$
2	$4 \text{NH}_3 + 5 \text{O}_2 \rightarrow 4 \text{NO} + 6 \text{H}_2\text{O}$	-904	$-853 - 301 T$ para $600 \text{K} < T < 1500 \text{K}$
3	$4 \text{NH}_3 + 4 \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{N}_2\text{O} + 6 \text{H}_2\text{O}$	-1105	
4	$4 \text{NH}_3 + 3 \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{N}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$	-1267	
5	$4 \text{NH}_3 + 6 \text{NO} \rightarrow 5 \text{N}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$	-1806	
6	$4 \text{NH}_3 + 4 \text{NO} + 4 \text{O}_2 \rightarrow 4 \text{N}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$	-1627	
7	$\text{NO} + 1/2 \text{O}_2 \leftrightarrow \text{NO}_2$	-113	$-114 + 0,150 T$ para $600 \text{K} < T < 1500 \text{K}$

Tabla 6. Datos termodinámicos de oxidación de compuestos nitrogenados

La oxidación térmica de amoníaco depende obviamente de la temperatura, el tiempo de residencia y la composición del gas. La oxidación comienza sobre los 1100K, cerca de las condiciones estequiométricas, generándose una gran cantidad de NO y aumentando la temperatura.

Uno de los inconvenientes principales de esta tecnología es el contenido de óxidos de nitrógeno en el gas tratado, debido a que las altas temperaturas de reacción hacen que reaccionen el oxígeno y nitrógeno del aire, formándose óxidos de nitrógeno. La oxidación del nitrógeno del aire para dar NO es una reacción muy endotérmica y desfavorable termodinámicamente, pero se produce si se alcanzan altas temperaturas (a 1800K se puede llegar a generar 4000 ppm de NO). El NO es un compuesto inodoro, por lo que se podría usar la incineración térmica para la eliminación de olores, pero se trata de un compuesto altamente tóxico, por lo que su emisión está regulada (Busca and Pistarino 2003). Igualmente se puede producir N₂O. La emisión de N₂O no está todavía regulada, pero se trata de un gas de efecto invernadero como el CO₂.

2.7.2. Combustión catalítica

La combustión catalítica es una alternativa a la incineración térmica para tratar efluentes altamente concentrados, permitiendo una recuperación de energía. El uso de catalizadores permite que las emisiones de óxidos de nitrógeno sean muy bajas, al igual que el consumo de combustible. Las principales desventajas son el complicado diseño del reactor y los costes del catalizador (metales nobles de corta vida útil). De hecho, la combustión catalítica sufre de inhibición del catalizador cuando el gas contiene compuestos de azufre (Busca and Pistarino 2003).

Uno de los precursores del ácido nítrico es el NO, que se genera mediante una oxidación catalítica del amoníaco con un catalizador de platino. Con respecto al tratamiento de gases (Burch and Southward 2001), lograron una combustión limpia de óxidos de nitrógeno en la combustión de biogás, empleando catalizadores de Rh/Al₂O₃ o Ir/Al₂O₃ bajo condiciones limitantes de oxígeno.

2.7.3. Oxidación catalítica selectiva de NH_3 a nitrógeno

Se le conoce con las siglas SCO (Selective Catalytic Oxidation); permite la disminución de la concentración de amoníaco de gases que contienen oxígeno, sin la necesidad de introducir otros reactivos en la mezcla de gases y sin la generación de otros contaminantes (Busca and Pistarino 2003).

La reacción [4] de la Tabla 6 tiene una mayor velocidad a bajas temperaturas. Debido a la estabilidad termodinámica del N_2 con respecto al NO y N_2O , es obvio que las reacciones [3] y [2] deben ser paralelas en lugar de sucesivas con respecto a la reacción [4]. Mediante un catalizador de Cu-Y/zeolita se han logrado conversiones del 100% y un 98% de selectividad a 573 K (Gang *et al.*, 1999).

2.7.4. Condensación

El amoníaco puede ser recuperado por condensación, dado el bajo punto de ebullición (240K y 1 atm). Esta técnica es actualmente razonable de emplear cuando en el gas tenemos una concentración muy alta de amoníaco, bajo presión significativa y cuando enfriar es relativamente fácil al disponer de fluidos criogénicos. Éste es el caso de la síntesis del gas amoníaco.

2.7.5. Absorción

El amoníaco es muy soluble en agua pura, e incluso más en soluciones ácidas. Soluciones de fosfato de amonio son utilizadas para recuperar el amoníaco desde gases que contienen CO_2 y H_2S ; este proceso se denomina Phosam-W. Así, la absorción en agua o soluciones de agua, puede realizarse en torres de absorción. La regeneración es también posible mediante un “stripping” a alta temperatura o un sobrecalentamiento. El principal inconveniente de este tipo de proceso es que el amoníaco no es destruido, por lo que se necesita de un tratamiento posterior si la concentración es tal que su reutilización no es posible.

La absorción con agua es particularmente efectiva para tratar, además de amoníaco, compuestos como aminas, cetonas, acetatos, etc. (Regina 2006).

2.7.6. Adsorción

Los materiales más utilizados en la adsorción de amoníaco son las zeolitas (materiales como Linde 4A, 5A o 10X. Zeolitas de origen natural como clinoptilolita han sido empleadas para absorber amoníaco procedente del hogar de una caldera (Kelleher *et al.*, 2002). Otro material empleado es el carbón activo que puede ser empleado en los ciclos de refrigeración (Critoph 2002). Los sistemas de absorción-regeneración permiten recuperar el contaminante cuando la concentración es lo suficientemente alta, siendo posible la reutilización del soporte.

2.8. ELIMINACIÓN DE NH_3 MEDIANTE BIOFILTRACIÓN

2.8.1. Microorganismos

La eliminación de amoníaco se lleva a cabo a partir de una parte del ciclo biológico del nitrógeno (Figura 9), la nitrificación (Madjid 2005).

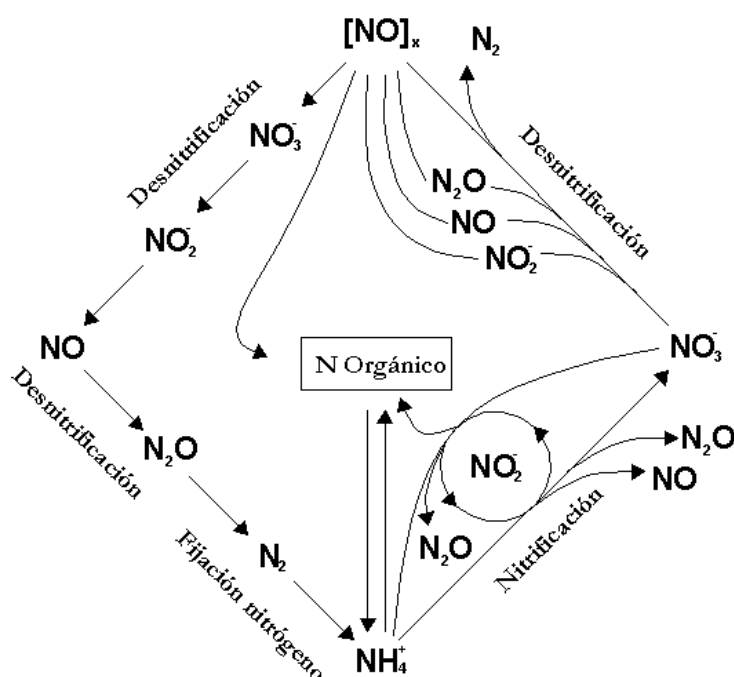
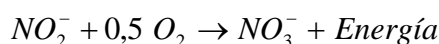
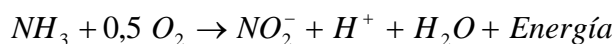


Fig 9. Ciclo biológico del nitrógeno

En un primer paso los microorganismos (ej., *Nitrosomonas sp.*) transforman el amoníaco en nitrito, estas bacterias son autótrofas (emplean como fuente de carbono el CO_2 atmosférico).

El nitrito producido es oxidado a nitrato en un segundo paso (ej., *Nitrobacter sp.*). Los pasos de la oxidación pueden describirse mediante las dos ecuaciones siguientes (Stepanov and Korpela 1997):



Durante el proceso de oxidación de amoníaco se pueden producir trazas de NO y N₂O. También se podría producir nitrógeno bajo ciertas condiciones de operación (Stepanov and Korpela 1997), así *Nitrosomonas europaea* puede generar nitrógeno en condiciones limitantes de oxígeno (Poth 1986; Shrestha *et al.*, 2002). En la oxidación de amoníaco por *Nitrosomonas europaea* intervienen dos enzimas, la amonio monooxigenasa (AMO) y la hidroxilamina oxidoreductasa (HAO), siendo el amoníaco libre (NH₃) el sustrato, ya que esta especie no puede oxidar el ión amonio (Suzuki *et al.*, 1974). La primera enzima (AMO) oxida el amoníaco a hidroxilamina (NH₂OH) y consume oxígeno molecular y dos electrones. En el segundo paso metabólico la enzima HAO oxida la hidroxilamina a nitrito, liberando cuatro electrones. Dos de estos electrones son consumidos por la AMO en el primer paso metabólico y los otros dos son empleados para la síntesis de ATP o para fijar el CO₂ mediante una reducción (Wood 1986). En la Figura 10 se ha representado esquemáticamente los pasos metabólicos.

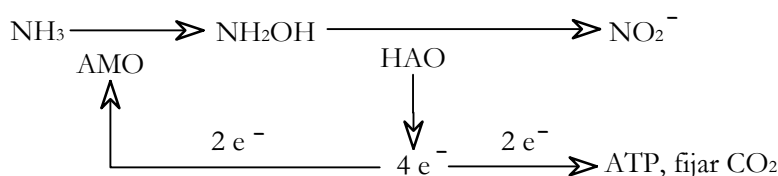
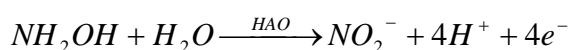
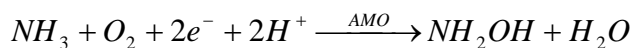


Fig 10. Pasos Metabólicos de oxidación de amoníaco a nitrito por *Nitrosomonas europaea*

Las reacciones que tienen lugar son (Kowalchuk and Stephen 2001):



En la desnitrificación por *Nitrosomonas europaea* intervienen 3 enzimas (Figura 11): Nitrito reductasa, Nitrito oxidoreductasa y Nitroso oxido reductasa (Shrestha *et al.*, 2002).

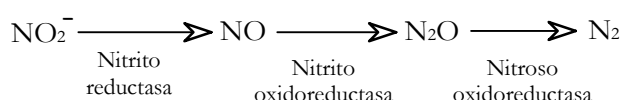


Fig 11. Pasos Metabólicos de oxidación de nitrito a nitrógeno por *Nitrosomonas europaea*

La degradación de amonio también puede ser realizada por bacterias nitrificantes heterótrofas, como *Alcaligenes*, *Pseudomonas* y *Arthrobacter sp.* Los microorganismos autótrofos tienen un papel muy importante en la eliminación de NH_3 , sin embargo, en algunas condiciones como en ambientes ácidos, condiciones limitantes de oxígeno o con altas concentraciones de amoníaco, la nitrificación heterótrofa es predominante, especialmente en ambientes ácidos (Chung and Huang 1998).

El producto final de la oxidación es frecuentemente nitrito, no llegándose a la oxidación hasta nitrato, aunque los microorganismos heterótrofos pueden utilizar el nitrito como fuente de energía. Las velocidades de nitrificación de los heterótrofos son varios ordenes de magnitud menor (10^3 - 10^4) que la de los autótrofos, pero la concentración de heterótrofos es 10^4 - 10^5 veces mayor que la de los autótrofos, por tanto se puede ver compensada la capacidad de eliminación (Prosser 1989). La mayor concentración de heterótrofos va acompañada de una mayor biodiversidad en comparación de los autótrofos. Estudios de biodiversidad de población en comunidades degradadoras de amonio, indican una disminución de la biodiversidad de la población durante periodos largos de operación en sistemas de eliminación de amoníaco (Sakano and Kerkhof 1998).

En biofiltración son muy pocos los estudios realizados con cultivos puros, siendo la inmensa mayoría de biofiltros inoculados con lodos activos (Hartikainen *et al.*, 1996; Yani *et al.*, 1998b; Yani *et al.*, 1998a; Liang *et al.*, 2000; Hirai *et al.*, 2001b; Gracian *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2002b; Sheridan *et al.*, 2002a; Sheridan *et al.*, 2002b; Chen *et al.*, 2004b; Chen *et al.*, 2005; Shahmansouri *et al.*, 2005; Taghipour *et al.*, 2006; Chou and Wang 2007). La no utilización de cultivos puros implica la necesidad de un periodo de aclimatación, que puede ser del orden de

semanas e incluso de meses. Así Liang *et al.* (2000) necesitaron un periodo de 2 semanas de aclimatación, Gracian *et al.* (2002) de 3 a 4 semanas y Shahmansouri *et al.* (2005) hasta 3 meses.

Con respecto al empleo de cultivos puros, Chung *et al.* (1997b) emplean un biofiltro inoculado con un microorganismo heterótrofo, aislado de granjas animales donde las concentraciones de amoníaco son muy altas. Identifica la bacteria como *Arthrobacter oxydans* CH8, y realiza una inmovilización por atrapamiento en esferas de alginato de calcio. Chung and Huang (1998) trabajan con la misma cepa utilizada en el desarrollo de esta Tesis Doctoral (*Nitrosomonas europaea* ATCC 19718), realizando también una inmovilización por atrapamiento en esferas de alginato de calcio. Realizan un estudio para ver como afecta la contaminación de microorganismos heterótrofos suministrando glucosa a uno de los biofiltros; obtienen que la presencia de bacterias heterótrofas producen una disminución del porcentaje de eliminación del 84,2% al 73,5%.

Un microorganismo novedoso, no empleado hasta el momento para la eliminación de amoníaco, fue la bacteria marina: *Vibrio alginolyticus* (Kim *et al.*, 2000; Kim and Shoda 2002). Se trata de una bacteria aislada de un medio halófilo, que trabajan con una concentración de NaCl del 3% (p/v), por lo que a pesar de no trabajar en condiciones estériles, logran evitar que la contaminación afecte al rendimiento del biofiltro; realizan la inmovilización sobre obsidiana sinterizada (fluyolita). Kanagawa *et al.* (2004) aíslan una cepa nitrificante de un suelo, sin embargo no identifican el microorganismo. Kim *et al.* (2007b) recientemente aíslan un cultivo mixto nitrificante, mediante el enriquecimiento en un medio específico para la obtención de este tipo de bacterias, pero tampoco llegan a identificar las especies presentes.

2.8.2. Soportes utilizados en la eliminación de NH₃

En la Tabla 7 se recogen las distintas configuraciones de biofiltros empleadas para la eliminación de amoníaco, así como, los inóculos empleados y los resultados más relevantes obtenidos en cuanto a rango de concentraciones de entrada de amoníaco, tiempos de residencias, porcentajes de eliminación obtenidos y capacidades de eliminación alcanzadas en los trabajos que se han revisado.

TIPO	Relleno	Inóculo	EBRT	[NH ₃]	R	EC	Referencia
			s	ppmv (30°C)	%	gNm ⁻³ t ⁻¹	gNkg ⁻¹ d ⁻¹
BF	Turba	-	7-25	37 (29-44)	-	-	0,38 (Martin <i>et al.</i> , 1996)
BF	Turba	Lodo activo	21-28	20 (20-66)	95	4,97	1,39 (Hartikainen <i>et al.</i> , 1996)
BF	Alginato de calcio	<i>Arthrobacter Oxylans</i> CH8	70 (12-140)	60 (10-60)	97	1,68	0,11 (Chung <i>et al.</i> , 1997)
BF	Fibras de carbón activo	Lodo	21-210	30-223	100 89,5	3,30 7,71	1,5 3,5 (Yani <i>et al.</i> , 1998a)
BF	Turba	Lodo	11-165	28-223	100	13,04	1,6 (Yani <i>et al.</i> , 1998b)
BF	Alginato de calcio	<i>Nitrosomonas europaea</i> ATCC 19718	70 (12-168)	60 (10-200)	93,1 97,7	26,41 1,70	3,24 0,11 (Chung and Huang 1998)
BF	Compost (cultivo nitrificante)	Compost fresco	131	110	100	1,89	- (Smet <i>et al.</i> , 2000)
			131	453	94	7,26	
			40	102	64	3,29	
	Sin inóculo		131	804	87	10,45	-
BF	Obsidiana sinterizada	<i>Vibrio Alginolyticus</i>	47	800	100	9,60	34,41 (Kim <i>et al.</i> , 2000)
			30	1200	85	19,13	70,54
			-	-	100	18,90	69,71
BF	Obsidiana sinterizada	<i>Vibrio Alginolyticus</i>	-	170-880	100	-	16 (Kim and Shoda 2002)
BF	Compost/Carbón activo (4:1)	-	32	20	95	0,67	0,02 (Liang <i>et al.</i> , 2000)
	Compost/Lodo activo		51	500	92	10,22	0,30
	activo/Carbón granular (4:4:3)		51	200	99,3	4,41	0,13
BF	Cerámica	Lodo activo	36-72	0-255	100	1,50	9,58 (Hirai <i>et al.</i> , 2001)
	Cristobalita					0,29	6,25
	Obsidiana calcinada					1,50	6,67
	Suelo granulado calcinado					0,30	6,67
BF	Astillas de Madera (20 mm)	Lodo activo	1,9-4,7	-	64-92 69-93	-	- (Sheridan <i>et al.</i> , 2002b)
	Astillas de Madera (10-16 mm)						
BF	Astillas de Madera (20 mm)	Lodo activo	1,9-4,7	-	54-95	-	- (Sheridan <i>et al.</i> , 2002a)
BF	Espuma de poliuretano/Polvo de carbón activo y zeolita	Lodo activo	47	204 (51-204)	97	4,00	8,54 (Kim <i>et al.</i> , 2002)
			23		90	7,58	16,20
BF	Lodo granulado	Lodo activo	36 (14-36)	104 (102-307)	90	4,32	- (Gracian <i>et al.</i> , 2002)
BF	Compost/perlita (5:1)	Compost	30(18-60)	58	99	3,91	- (Chen <i>et al.</i> , 2004)
	Lodo seco/Carbón granular (5:1)	Lodo activo		731	70	34,59	

Tabla 7. Datos de eliminación de NH₃ mediante Biofiltración

TIPO	Relleno	Inóculo	EBRT	[NH ₃]	R	EC	Referencia
			s	ppmv (30°C)	%	gNm ⁻³ h ⁻¹	gNkg ⁻¹ d ⁻¹
BF	Cerámica	Bacteria aislada suelo	4,5	86	98,2	40,93	-
BTF			37,5	1017	99,8	59,88	(Kanagawa <i>et al.</i> , 2004)
BTF	Tubos de plástico unidos y dispuestos verticalmente	-	1,0-1,4	(13-18)	79 (41-94)	-	(Melse and Mol 2004)
BTF	Cerámica	-	5,4	26	98	2,78	(Sakuma <i>et al.</i> , 2004)
BF	Fibra de coco	Biofiltro industrial	36	46	100	2,64	-
				127	98,7	6,99	(Baquerizo <i>et al.</i> , 2005)
				251	55,0	7,79	
				192	86,2	8,09	
BF	Compost/lodo depuradora/trozos PVC (3:2:1)	Lodo activo	60	236 (10-236)	99,9	8,12	(Shahmansouri <i>et al.</i> , 2005)
BF	Cáscara de coco/compost (1:1)	-	151	198 (34-198)	100	2,66	-
BF	Compost/perlita/carbón activo	Lodo activo	30 (18-60)	292 (29-292)	98,0	10,65	(Hong and Park 2005)
				161	50,9	9,88	(Chen <i>et al.</i> , 2005)
			36 (18-60)	292 (29-292)	97,0	8,79	
				161	51,5	8,34	0,58
BF	Compost maduro	-	86	7-4604	100	22,24	-
					95,9	52,99	(Pagans <i>et al.</i> , 2005)
					88,02	70,16	
BF	Compost/Plástico alta densidad/Lodo activo (3:2:1). 3 secciones	Lodo activo	60	236 (50-250)	99,9	8,11	-
							(Taghipour <i>et al.</i> , 2006)
				195 (25-250)	99,4	6,62	-
BTF	Coque. Sin glucosa	Lodo activo	59 (30-236)	130-260	98	5,95	0,27
					(86,5-97,8)		(Chou and Wang 2007)
	Coque. Con glucosa		36 (30-236)	200-250	94,2	10,16	0,47
					(97,8-39,4)		
BF	Alginato de sodio/polivinil alcohol + anillos rashing	Cultivo mixto aislado EDAR	51 (32-85)	93 (10-150)	>95	3,52	-
			32	97	73,3	4,53	(Kim <i>et al.</i> , 2007)

Tabla 7 (Continuación). Datos de eliminación de NH₃ mediante Biofiltración

Todos los valores de esta Tabla han sido convertidos a las mismas unidades para poder comparar, así mismo algunos de estos datos no son suministrados directamente por los autores, por lo que se han calculado en función de los datos suministrados en cada estudio.

Como se puede observar, la gran mayoría de las configuraciones son biofiltros, siendo sólo cuatro los trabajos encontrados en los que se emplea un biofiltro de escurrimiento (Kanagawa *et al.*, 2004; Melse and Mol 2004; Sakuma *et al.*, 2004; Chou and Wang 2007). Entre los biofiltros predomina el uso del compost y la turba, a veces mezclados con compuestos inorgánicos como el carbón activo y perlita (Chen *et al.*, 2005), e incluso plástico (Taghipour *et al.*, 2006). Los materiales naturales tienen la desventaja de que su descomposición puede causar fenómenos de taponamiento y cambio en el tamaño de partícula, con el consiguiente aumento de la pérdida de carga (Kim *et al.*, 2002b).

2.8.3. Resultados obtenidos en la eliminación de NH_3

En la mayoría de los estudios realizados se emplean como inóculo lodos activos y se favorece la proliferación de bacterias, tanto amonio oxidantes como nitrito oxidantes, por lo que se pretende alcanzar una oxidación total hasta nitrato, pero la formación final de nitrito o nitrato va a estar influenciada por las concentraciones de amoníaco (Focht and Verstraete 1977), de los productos de la oxidación (Hunik *et al.*, 1992; Smet *et al.*, 2000) y del pH. La inhibición para la especie *Nitrosomonas europaea* y *Nitrobacter agilis* ocurre para concentraciones muy altas de amoníaco, mientras que para el nitrito la inhibición es mucho mayor a pH bajos, por el aumento de la concentración de ácido nitroso (Smet *et al.*, 2000). A pH altos esta inhibición no debiera de ocurrir pero el aumento de la presión osmótica, debido a concentraciones altas de iones, inhibe principalmente la especie *Nitrosomonas europaea* (Hunik *et al.*, 1992).

El valor máximo de la capacidad de eliminación fue obtenida mediante un biofiltro de escurrimiento por Kanagawa *et al.* (2004), 59,88 gN m⁻³h⁻¹ con un porcentaje de eliminación del 99,8%. Igualmente el tiempo de residencia más bajo (1,0 y 1,4 segundos) también fue empleado en un biofiltro de escurrimiento por Melse and Mol (2004), obteniendo una capacidad máxima de eliminación de 33,83 gN m⁻³h⁻¹, con un porcentaje de eliminación del 90%.

2.9.ELIMINACIÓN CONJUNTA DE H₂S Y NH₃

El estudio de la eliminación conjunta de H₂S y NH₃ tiene una gran importancia, puesto que ambos compuestos son emitidos conjuntamente por muchas industrias. Normalmente, altas concentraciones de H₂S y bajas de NH₃ son emitidas por el procesado del caucho, industria del cuero y plantas de tratamiento de aguas residuales (Chung *et al.*, 2004c), mientras que altas concentraciones de NH₃ y bajas de H₂S son emitidas por plantas de producción de compost, industria del pescado, granjas de cría e incineradoras de animales (Chung *et al.*, 1996c; Devanny *et al.*, 1999; Sheridan *et al.*, 2002b; Chung *et al.*, 2005).

Muchos de estos trabajos han eliminado el amoníaco de forma indirecta, mediante la reacción química que se produce entre éste y el sulfato, sustrato principal de la oxidación biológica del ácido sulfhídrico, formándose sulfato amónico (Tanji *et al.*, 1989; Cho *et al.*, 1992c; Park *et al.*, 1993; Kim *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2005). Las concentraciones de amoníaco estudiadas son muy bajas, no encontrándose efectos inhibitorios en la eliminación de los compuestos azufrados por la presencia de amoníaco; son Lee *et al.* (2005) los que trabajan en un rango de concentraciones de amoníaco mucho mayor desde 50 hasta 500 ppmv. En este último trabajo los autores adaptan una cepa de *Acidithiobacillus thiooxidans*, aislada de un lodo activo, a altas concentraciones de sulfato amónico encontrando que hasta una concentración de 60 g l⁻¹ de sulfato amónico no resulta letal para el crecimiento y oxidación biológica de azufre. En cuanto a la eliminación de H₂S, la capacidad de eliminación crítica disminuye desde 810 gS m⁻³h⁻¹ hasta 400 gS m⁻³h⁻¹ por la presencia de amoníaco, siendo la capacidad máxima de eliminación de éste de 190 gN m⁻³h⁻¹.

La mayoría de los trabajos realizados de eliminación conjunta de estos dos compuestos emplean cultivos mixtos con bacterias azufre y amonio oxidantes.

Chung *et al.* (2000) inmovilizan *Thiobacillus thioparus* CH11 y *Nitrosomonas europaea* ATCC 19718 en esferas de alginato de calcio utilizando un biofiltro de escurrimiento. Trabajan con concentraciones de 60 a 120 ppmv para cada uno de los componentes. Encuentran que altas concentraciones de H₂S pueden inhibir la eliminación de NH₃, mientras que altas concentraciones de NH₃ no afectan a la eliminación de H₂S. Atribuyen que la alta eliminación de H₂S, a pesar de tener una alta concentración de NH₃, se pueda deber a la neutralización del

NH₃ con el sulfato procedente de la oxidación del H₂S, de forma que se previene la acidificación; por el contrario cuando aumentan la concentración de H₂S, con respecto a la concentración de amoníaco se produce una disminución de la eliminación de éste. Atribuyen la disminución de la eliminación de NH₃ a dos efectos: inhibición por la disminución del pH (hasta 6,5) y/o inhibición por la alta concentración de H₂S. Las capacidades máximas críticas para no superar concentraciones de salida de 0,1 y 1 ppmv de H₂S y NH₃ respectivamente, fueron de 3,8 gS m⁻³h⁻¹ y 5,6 gN m⁻³h⁻¹ con un tiempo de residencia del gas de 72 segundos. La concentración máxima de nitrito alcanzada en el medio de recirculación fue de 386 mg l⁻¹ (28,3 mM N(NO₂⁻)), y la cantidad máxima de NH₄⁺/NH₃ residual en el reactor fue sólo del 5%.

Chung *et al.* (2001) inmovilizan dos bacterias heterótrofas, *Arthrobacter oxydans* CH8 para la eliminación de amoníaco y *Pseudomonas putida* CH11 para el ácido sulfhídrico. Realizan una inmovilización por atrapamiento en esferas de alginato de calcio. El rango de concentraciones va desde 60 a 120 ppmv para ambos compuestos. Obtienen porcentajes de eliminación mayores del 95% para el amoníaco y por encima del 90% para el sulfhídrico. Al trabajar con altas concentraciones de H₂S observan una inhibición por sustrato de la eliminación de H₂S (ocurre un aumento de la concentración de sulfuro en medio líquido hasta 0,16 mg l⁻¹). Al aumentar la concentración de NH₃ se produce una ligera acidificación del biofiltro que provoca una disminución de la eliminación de H₂S. Las concentraciones de nitrito en el medio líquido son muy pequeñas, de 0,069 mg l⁻¹ (1,5 · 10⁻³ mM N(NO₂⁻)). Al aumentar la concentración de H₂S con respecto a la de amoníaco observan que, a 60 ppmv, se favorece el metabolismo de NH₃ con respecto a la ausencia de H₂S, sin embargo para 120 ppmv la eliminación disminuye, siendo el valor de la constante de saturación mayor y, por tanto, la afinidad por el amoníaco menor.

Park *et al.* (2001) trabajan con un biofiltro de escurrimiento empaquetado con cerámica porosa fabricada a partir de cenizas, diatomita y escorias de altos hornos. Como inóculo emplearon un lodo activo, que necesitó un tiempo de aclimatación de un mes para alcanzar una eliminación del 95%. Tratan un efluente real de una planta de compostaje con concentraciones de NH₃ en el rango de 8-90 ppmv y de H₂S de 3,3-5,5 ppmv. Consiguen una eliminación mayor del 95%, con tiempos de residencia de 7,2 segundos. Las capacidades

máximas de eliminación que alcanzaron fueron de $1,13 \text{ Kg NH}_3 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ($38,8 \text{ gN m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) y $0,165 \text{ kg H}_2\text{S m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ($6,5 \text{ gS m}^{-3} \text{ h}^{-1}$).

Kim *et al.* (2002a) emplean dos biofiltros empaquetados uno con astillas de madera y otro con carbón activo granular. Alcanzan porcentajes de eliminación del 99% y 92% para el H_2S y NH_3 respectivamente. Emplean como inóculo *Thiobacillus thioparus* (ATCC 23645) para la eliminación de H_2S y un lodo activo como cultivo mixto de bacterias nitrificantes para el NH_3 . El rango de concentraciones es desde 35 a 200 ppmv y desde 30 a 450 ppmv para el amoníaco y ácido sulfhídrico respectivamente, con tiempo de residencia de 20 a 60 segundos. Encuentran que altas concentraciones de H_2S por encima de 200 ppmv inhibe la eliminación de NH_3 , que disminuye hasta el 28% en el biofiltro con astillas de madera; en el biofiltro con carbón activo la disminución es menor (75%), debido posiblemente a la capacidad del carbón activo de absorber picos de concentración. El efecto de esta disminución es reversible en ambos biofiltros al disminuir la concentración de H_2S . Al disminuir el pH por la formación de H_2SO_4 y HNO_2 disminuye la eliminación, acumulándose el amoníaco como sulfato amónico. Alcanzan capacidades de eliminación máximas de $8,0 \text{ mgN l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $75 \text{ mgS l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en el biofiltro con astillas de madera y de $6,0 \text{ mgN l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $45 \text{ mgS l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en el biofiltro con carbón activo granular.

Lee *et al.* (2002) trabajan con un biofiltro empleando como soporte cerámica y como inóculo excrementos de *Lumbricus terrestris*. Obtienen porcentajes de eliminación del 100% para concentraciones de hasta 600 ppmv ($\text{EC}=148 \text{ gN m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) y tiempo de residencia de 10,9 segundos. Al alimentar conjuntamente H_2S observan efectos de inhibición para cargas de alimentación sobre $60 \text{ gS m}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Los valores máximos de eliminación (99%) los obtienen para cargas de alimentación de amoníaco de $139 \text{ gN m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y concentraciones de entrada de H_2S por debajo de 100 ppmv. Para concentraciones de H_2S de 220 ppmv y 460 ppmv la capacidad máxima de eliminación de amoníaco ($R=99\%$) disminuye hasta 76 y 30 $\text{gN m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ respectivamente. Las concentraciones de nitrito y nitrato en el drenaje líquido fueron de $3,5 \pm 0,7$ y $5,5 \pm 1,4 \text{ g l}^{-1}$ (76,1 y 88,7 mM respectivamente).

Malhautier *et al.* (2003b) trabajan con dos biofiltros utilizando como soporte un lodo granulado. Como inóculo utilizan un lodo activo y aclimatan un biofiltro (BGSn) a la

eliminación de H_2S y el otro (BGNn) a la eliminación de NH_3 . El rango de concentraciones va desde 50 hasta 200 ppmv para ambos compuestos. Las cargas de alimentación son de $26,66 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y $2,91 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ para el BGSn y de $6,66 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y $11,66 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ para el BGNs. Obtienen porcentajes de eliminación para H_2S del 100% en el BGSn y del 80% en el BGNn y para el NH_3 son del 100% en el BGNs y del 80% en el BGSn. Al igual que los investigadores anteriores encuentran un efecto negativo sobre la población nitrificante al trabajar con altas concentraciones de H_2S . La eliminación de H_2S tampoco se ve afectada por las concentraciones de amoníaco. El número de bacterias nitrificantes en el BGNs ($10^3\text{-}10^4$ bacterias g^{-1}) es 10 veces superior a la población en el BGSn, produciéndose en el BGNs una acumulación de nitrito del 19%.

Jones *et al.* (2004) trabajan con dos biofiltros, uno comercial (Bio-Matrix®, soporte patentado por BioReaction Industries, LLC.) y otro con una mezcla de astillas de madera y compost (“natural”). El soporte comercial es descrito como unos cilindros de $\frac{5}{8}$ de pulgada de diámetro relleno de un material orgánico. Trabajan con concentraciones de H_2S de 20 a 100 ppmv. En el biofiltro con el soporte comercial obtienen que cada sección contribuye a la eliminación, puesto que la concentración disminuye significativamente a lo largo del lecho, siendo los porcentajes de eliminación desde el 36% en el puerto de muestra más cerca de la base hasta el 92-96% para el rango de concentraciones. Con el soporte natural la mayor parte de la eliminación fue alcanzada en la primera sección, siendo para 100 ppmv la eliminación en el puerto de muestras más inferior del 68% y a la salida del 90%. Con respecto al efecto de la adición de amoníaco, encuentran que la adición de 80 ppmv de NH_3 no tiene un efecto apreciable sobre la eficiencia de eliminación de H_2S . Los porcentajes de eliminación de NH_3 son del 94% y 99% para los biofiltros con soporte comercial y natural respectivamente (concentración de entrada de H_2S de 100 ppmv).

Chung *et al.* (2004a) inmovilizan dos bacterias heterótrofas, *Arthrobacter oxydans* CH8 para la eliminación de amoníaco y *Pseudomonas putida* CH11 para el ácido sulfhídrico. Realizan una inmovilización por adhesión en carbón activo granular; en un estudio anterior emplearon alginato de calcio con estas mismas bacterias (2004b). El porcentaje de eliminación medio fue del 98% para concentraciones de H_2S de 0,083 a 0,167 mg l^{-1} (61-122 ppmv) y 0,004 a 0,021

mg l⁻¹ (6-31 ppmv) para el amoníaco. Encuentran que la eliminación de H₂S no se ve afectada por la concentración de NH₃, no observando tampoco acidificación del biofiltro. La máxima capacidad de eliminación alcanzada y la carga crítica fueron de 18,9 y 7,7 gH₂S m⁻³h⁻¹, siendo *Pseudomonas putida* CH11 la especie dominante (población mayor del 90%).

Chung *et al.* (2004b) publican otro artículo este mismo año empleando el mismo sistema. En este caso estudian la variación de la fuente de carbono empleando melazas (0,21 g de glucosa por gramo de melaza) y glucosa. El rango de concentraciones de NH₃ y H₂S es de 10 a 120 ppmv, con tiempos de residencia de 180 a 30 segundos. Encuentran que la melaza proviene una mayor eficiencia de la especie *Arthrobacter oxydans* CH8, no variando la eficiencia para la *Pseudomonas putida* CH11. Como productos metabólicos de la oxidación de amoníaco el mayoritario fue el nitrógeno orgánico (84,4%) seguido del amoníaco (15,55% de NH₄⁺/NH₃) acumulado en el soporte, mientras que el producto mayoritario fue el azufre elemental (90,85%) seguido del sulfato (9,09%). Mantienen fácilmente el pH en torno 6-8, puesto que el amoníaco que se acumula se neutraliza con el sulfato y, al ser el azufre el compuesto mayoritario, se evita la acidificación. El porcentaje de eliminación fue del 99,5% y del 99,2% para el H₂S y NH₃ respectivamente, a 60 ppmv de cada compuesto con un EBRT de 45,25 segundos.

Chen *et al.* (2004a) trabajan con un biofiltro empaquetado con compost. Las cargas de alimentación fueron de 5,88 gS m⁻³h⁻¹ y 7,89 gN m⁻³h⁻¹, alcanzando porcentajes de eliminación de H₂S mayores del 99% y sobre el 80% de amoníaco. Los productos de la oxidación del amoníaco son nitrito y nitrato y del ácido sulfhídrico fue sulfato. Sin embargo la mayor parte de la eliminación de amoníaco se debe a una absorción sobre el soporte y la fracción acuosa del soporte. Encuentran que la mayor eliminación se alcanza en la primera sección de la columna y que la presencia de amoníaco no afecta a la eliminación de H₂S.

Chung *et al.* (2005) continúan trabajando con las mismas bacterias y el mismo soporte y equipo (*Arthrobacter oxydans* CH8 y *Pseudomonas putida* CH11); en este caso califican el sistema como un biofiltro de escurrimiento, sin embargo la recirculación de medio sigue siendo intermitente, con el mismo caudal de recirculación que en el estudio anterior. En este caso trabajan con altas concentraciones de NH₃ en presencia de H₂S, no encontrando efecto

inhibitorio en la eliminación de NH_3 (80-120 ppmv) por la presencia de H_2S $6,25 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (98% de eliminación de NH_3 y 100% de H_2S), dado que no se produce acidificación significativa del medio. El pH del medio de recirculación lo mantienen entre 6,5 y 8,0 durante 140 días sin necesidad de controlarlo. Consiguen porcentajes de eliminación mayores del 96% cuando la carga de H_2S es de $6,25 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$. El tiempo de residencia para obtener una eliminación de amoníaco mayor del 95% fue de 65 segundos y la carga crítica de NH_3 fue de $4,2 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y la carga máxima de $16,2 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$. La población amonio oxidante fue mayoritaria entre el 87,9% y 94,2%.

Park *et al.* (2006) estudian la eliminación conjunta de tres compuestos, amoníaco, ácido sulfhídrico y tolueno para investigar los efectos de inhibición en mezclas ternarias. Emplean como inóculo varias cepas; para la eliminación de H_2S *Thiobacillus thioparus* (ATCC 23645, KCTC 2753), para la eliminación de tolueno *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15692, KCTC 1637) y *Pseudomonas putida* (ATCC 23973, KCTC 1643) y para la eliminación de amoníaco aíslan bacterias nitrificantes de un lodo activo (presumiblemente *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*). Como soporte emplean un soporte comercial “zeocarbon” y trozos de corcho, cada uno en un biofiltro. Según los resultados obtenidos los autores no encuentran evidencias de inhibición. Los tiempos de residencia del gas son de 40, 60 y 120 segundos. El rango de concentraciones en el biofiltro con “zeocarbon” fue de 37 a 168 ppmv, 30 a 160 ppmv y de 41 a 57 ppmv para el H_2S , NH_3 y tolueno respectivamente. En biofiltro con corcho el rango fue de 31 a 168 ppmv, 51 a 190 ppmv y de 3 a 134 ppmv para el H_2S , NH_3 y tolueno respectivamente. El porcentaje de eliminación del H_2S fue del 100% y las capacidades máximas de eliminación de 23 ± 12 y $11 \pm 6 \text{ gNH}_3 \text{ m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y $8 \pm 0,5$ y $4 \pm 0,3 \text{ g tolueno m}^{-3}\text{h}^{-1}$ para el biofiltro con “zeocarbon” y corcho respectivamente.

Chung *et al.* (2007) realizan una biofiltración en dos etapas para evitar los fenómenos de inhibición, observados en estudios anteriores, en la eliminación de NH_3 por la presencia de H_2S , para ello emplean dos biofiltros empaquetados con carbón activo granular, siendo el primero de ellos inoculado con *Thiobacillus thioparus* y el segundo con *Nitrosomonas europaea*, ambas bacterias aisladas de aguas residuales de pocilgas. De esta forma logran eliminar en el primer biofiltro el H_2S , de forma que se evita la inhibición de éste en la oxidación biológica

por las bacterias amonio oxidantes en el segundo biofiltro. Logran alcanzar un 98% de eliminación de H_2S y un 100% de NH_3 durante un periodo de operación de 210 días con tiempos de residencia de 23 a 180 segundos. El sistema de dos biofiltros en serie soporta incluso concentraciones de entrada de H_2S de hasta 300 ppmv sin disminución de la eliminación de NH_3 . La capacidad máxima de degradación de NH_3 fue de $2,35 \text{ gN d}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ ($47 \text{ gN m}^{-3} \text{ h}^{-1}$). La concentración máxima de sulfato en el medio líquido fue de $4,3 \text{ g l}^{-1}$ y $0,31 \text{ g l}^{-1}$ de nitrito ($6,74 \text{ mM}$). Del análisis de los productos metabólicos obtienen que el 68% de azufre total fue oxidado a azufre elemental y el 82,4% a nitrito. Al disminuir el tiempo de residencia disminuye la eliminación, logran una eliminación completa para tiempos de residencia de 36 y 45 segundos para el NH_3 y el H_2S respectivamente, disminuyendo la eliminación hasta el 75% para 25 segundos.

2.10. MODELOS MATEMÁTICOS

Hasta hace poco tiempo los procesos biológicos han sido estudiados con un modelo de caja negra, dada la complejidad de los procesos involucrados en estos sistemas. El modelado matemático del proceso de biofiltración empezó en la década de los años ochenta y, desde entonces, han sido muchos los modelos matemáticos postulados por diferentes autores (Ottengraf and Van den Oever 1983; Devinny *et al.*, 1991; Hodge *et al.*, 1991; Shareefdeen *et al.*, 1993; Deshusses *et al.*, 1995a; Deshusses *et al.*, 1995b).

2.10.1. Modelo de Ottengraf

El modelo fue publicado en el año 1983, (Ottengraf and Van den Oever 1983), pero se desarrolla unos años más tarde (Ottengraf 1986). Se basa en la teoría de la doble película descrita por Lewis and Whitman (1924), y parte de un modelo de crecimiento microbiano tipo Monod. A partir de una serie de simplificaciones se reduce a un conjunto de expresiones cinéticas de primer y segundo orden con soluciones analíticas. Las suposiciones del modelo fueron:

En la biopelícula el transporte de nutrientes es por difusión y puede ser descrita por un coeficiente de difusión efectiva, D_{eff} .

- El espesor de la biopelícula δ es pequeño comparado con el diámetro de las partículas.
- La microcinética de consumo de sustrato en la biopelícula es descrita por la ecuación de Monod según la ecuación:

$$r_i = \frac{\mu_{\max}}{y_i} \frac{C_{li}}{K_{si} + C_{li}} X$$

Donde: r_i es la velocidad de consumo del componente i por la biomasa; μ_{\max} es la velocidad específica máxima de crecimiento; y_i el coeficiente de rendimiento; C_{li} es la concentración del componente i en la fase líquida; K_{si} la constante de Monod del componente i y X la concentración de biomasa activa.

- El flujo de la fase gas a través del biofiltro sigue el modelo ideal de flujo en pistón.
- La resistencia de la película gaseosa es despreciable.

Para altas concentraciones del sustrato la velocidad de degradación tiende a ser independiente de su concentración ($C_{li} \gg K_{si}$) dando lugar a cinéticas de orden cero, pudiéndose diferenciar dos casos según sea la etapa limitante, la reacción química o la difusión del componente. Para bajas concentraciones del sustrato o baja solubilidad de éste en agua la velocidad de reacción es proporcional a su concentración, teniendo una cinética de primer orden (Figura 12).

El resultado de aplicar el modelo en función de la cinética de primer orden, de orden cero con limitación por reacción y de orden cero con limitación por difusión, da respectivamente las siguientes ecuaciones:

$$\frac{C_G}{C_{Gi}} = \exp\left(-\frac{h \cdot K_1}{m \cdot v_a}\right); \quad \frac{C_G}{C_{Gi}} = 1 - \exp\left(-\frac{h \cdot K_0}{C_{Gi} \cdot v_a}\right); \quad \frac{C_G}{C_{Gi}} = \left[1 - \frac{h}{v_a} \sqrt{\frac{K_0 \cdot D_{eff} \cdot a}{2 \cdot m \cdot C_{Gi} \cdot \delta}}\right]^2$$

Donde: C_G la concentración del gas; C_{Gi} la concentración a la entrada; h la altura del biofiltro; K_0 la constante cinética de orden cero; K_1 la constante cinética de primer orden; m el coeficiente de partición gas-líquido; v_a la velocidad superficial del gas; D_{eff} el coeficiente de difusión efectiva y δ el espesor de la biopelícula.

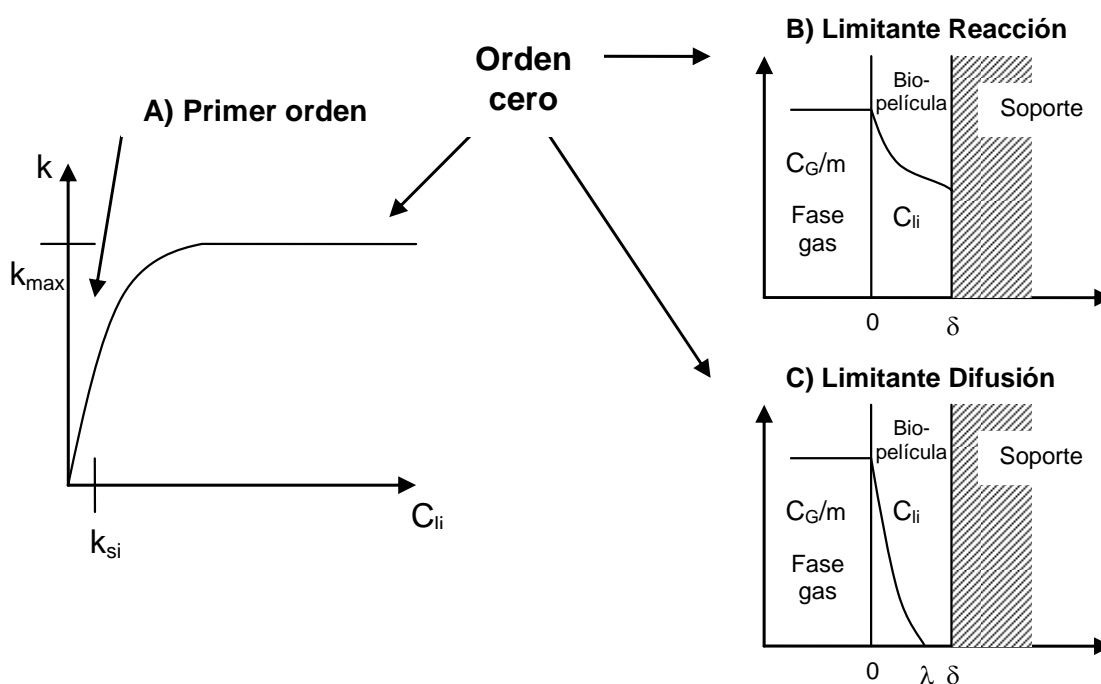


Fig 12. Casos cinéticos considerados en el modelo de Ottengraff

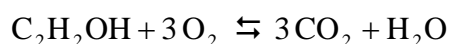
2.10.2. Modelo de Devinny y Hodge

Devinny y Hodge desarrollaron un modelo haciendo suposiciones simples, con el objeto de acentuar los efectos derivados de realizar cambios en la concentración de entrada (Devinny *et al.*, 1991; Hodge and Devinny 1995; Hodge and Devinny 1997).

El modelo describe el proceso biológico y los fenómenos básicos de transporte: el aire pasa a través del biofiltro y el contaminante se ve afectado por advección, dispersión, adsorción, absorción y degradación biológica. El modelo trata el medio poroso como un sistema con dos fases: la fase gas y la fase líquido/sólido. Se considera el líquido y los sólidos como una sola fase, para despreciar fenómenos como la difusión en estas dos fases y los procesos de adsorción en la interfase sólido/líquido. El modelo también describe la evolución del CO_2 generado por la biomasa, prediciendo los perfiles de concentración. Las simplificaciones son las siguientes:

- No hay fenómenos de turbulencia.

- La composición del relleno del biofiltro es homogénea (porosidad, contenido en agua, espesor biopelícula ...).
- Distribución y densidad de biomasa homogénea.
- Adsorción irreversible.
- Advección y difusión en la biopelícula son despreciables.
- Cinética de primer orden para la velocidad de consumo del sustrato por los microorganismos.
- La producción de CO₂ sigue la siguiente estequiometría:



La ecuación diferencial que describe el proceso, considerando que se alcanza el estado estacionario es:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - V \frac{\partial C}{\partial x} - \left(\frac{1-\theta}{\theta} \right) \left(\frac{\partial C_{ads}}{\partial t} + b_1 C_{ads} \right)$$

Siendo C la concentración en la fase gas a lo largo de la altura “x” del biofiltro; D el coeficiente de dispersión en la fase gas; V la velocidad axial intersticial del gas; θ la porosidad del material; C_{ads} la concentración en la fase líquido/sólido y t el tiempo.

Para resolver esta ecuación se han de utilizar métodos numéricos, pero si se asume que la dispersión longitudinal es despreciable y el sistema alcanza el estado estacionario, entonces se llega a la siguiente ecuación:

$$V \frac{dC}{dx} + b_1 \cdot k_m \cdot C = 0, \text{ con la siguiente solución analítica: } C = C_0 \cdot \exp\left(\frac{-b_1 \cdot k_m \cdot x}{V}\right)$$

Donde C es la concentración a lo largo de la altura “x” del biofiltro; C₀ es la concentración a la entrada, b₁ es la constante de primer orden de la degradación biológica, V la velocidad superficial del aire y K_m es el cociente de partición entre la masa de contaminante en la fase sólido/líquido y en la fase gas.

Así pues, la concentración en el biofiltro disminuye exponencialmente, con una velocidad constante proporcional a la velocidad de degradación y al coeficiente de partición y es inversamente proporcional a la velocidad de flujo de aire. El biofiltro trabaja mejor si la

biodegradación es rápida y si el contaminante pasa bien a la fase líquido/sólido. Muchos estudios indican que la biodegradabilidad y la solubilidad son dos de los factores más importantes para tener éxito en la eliminación de un compuesto mediante el uso de un biofiltro.

2.10.3. Modelo de Shareefdeen *et al.*

Shareefdeen publicó y validó otro modelo matemático (Shareefdeen *et al.*, 1993), estudiando la degradación de metanol en un biofiltro mediante un consorcio de bacterias inmovilizadas en una mezcla de turba con partículas de perlita. Este modelo es similar al propuesto por Ottengraff, pero con diferencias en las expresiones microcinéticas. Se pasó de considerar un solo compuesto en las ecuaciones cinéticas (sustrato) a tener en cuenta también el oxígeno como reactivo necesario en la degradación aerobia. Las suposiciones del modelo son:

- El metanol y el oxígeno son los únicos sustratos que afectan a la velocidad de reacción, considerándose difusión y reacción de ambos compuestos en la biopelícula. La velocidad específica de crecimiento es descrita por un modelo interactivo, teniendo una dependencia en la concentración de metanol de tipo Andrews (o Haldane, generalización de Monod) y una dependencia de oxígeno de tipo Monod.
- La biopelícula se forma en la superficie exterior de las partículas y el espesor δ^* es pequeño comparado con el tamaño de la partícula (se puede aplicar geometría plana). Al menos uno de los sustratos es agotado antes de alcanzar la interfase soporte biopelícula (ocurre a un espesor δ de la biopelícula). No hay ninguna capa límite en la interfase aire/biopelícula, y las concentraciones de cada componente en la interfase se obtienen por los coeficientes de distribución como proponen Ottengraf and Van den Oeve (1983). En la fase gas no hay variación de la concentración en dirección radial a la columna (flujo en pistón).
- La espuma de poliuretano utilizada como soporte de material de relleno (turba/perlita) no contribuye al proceso de biofiltración.
- La densidad de la biopelícula es constante a lo largo de la columna.

- Después de la etapa inicial del proceso, la acumulación de biomasa es insignificante u ocurre muy lentamente, por lo que se puede asumir estado estacionario o, más específicamente, pseudo-estacionario.

Bajo estas consideraciones se realizan los correspondientes balances de materia, llegando a una solución que requiere la integración por métodos numéricos para su resolución, evitando la elección entre primer orden u orden cero.

Este modelo permite calcular la profundidad a la cual penetran ambos compuestos y ver cual se agota primero, definiendo así el espesor activo de la biopelícula en función de la profundidad de penetración del reactivo limitante.

2.10.4. Modelo de Deshusses *et al.*

Deshusses (Deshusses *et al.*, 1995a; Deshusses *et al.*, 1995b) considera el biofiltro formado por un número finito de subdivisiones o capas. Cada subdivisión se divide en tres secciones (Figura 13): la fase gas, la biopelícula que rodea el material y el agua retenida dentro del soporte (volumen sorbido). La biopelícula es dividida en 4 subdivisiones y cada subdivisión se considera con mezcla ideal.

Asume una gran cantidad de simplificaciones similares a las de Ottengraff, siendo las más significativas:

- La concentración es homogénea en cada subdivisión ya que se supone en cada una de ellas mezcla ideal.
- El volumen sorbido es asumido igual al agua contenida en el material de soporte menos el volumen de la biopelícula, y ninguna reacción biológica tiene lugar en este volumen.
- No hay limitación por oxígeno.
- En la biopelícula se asume que no se da crecimiento de la biomasa, por lo que se mantienen constantes los parámetros cinéticos. Se utiliza una cinética tipo Monod con competición entre sustratos.

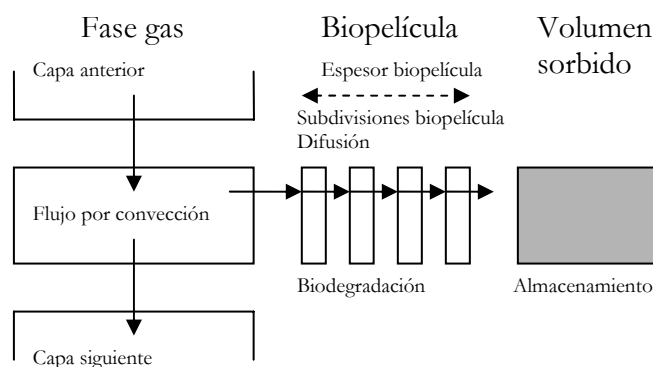


Fig 13. Esquema de la estructura del modelo (Deshusses *et al.*, 1995a)

Para validar el modelo realizó un estudio de la degradación simultánea de Metil etil cetona (MEK) y Metil isobutil cetona (MIBK) en un biofiltro con compost/poliestireno. Para cada subdivisión realizó un balance de materia que resuelve por diferencias finitas, necesitando para llegar a simular de 5 a 10 horas de operación entre 3000 y 5000 iteraciones.

2.10.5. Modelos QSARs

Las siglas QSARs provienen de la abreviatura de “Quantitative structure activity relationships”, que vendría a ser “Modelo cuantitativo estructura-actividad”. Estos modelos buscan describir la actividad de determinados compuestos químicos basándose en su estructura química. Los modelos QSAR son muy diferentes a los modelos conceptuales y en muchos casos más limitados, porque los datos usados son sólo los descritos por los compuestos utilizados y no pueden describir todos los aspectos de la biofiltración. Lo que si pueden describir es la capacidad de eliminación de un compuesto para unas condiciones dadas. Un ejemplo de aplicación de este modelo fue realizado por Aizpuru *et al.* (2002) para la eliminación de VOCs en un biofiltro, obteniendo un coeficiente de ajuste de 0,96.

2.10.6. Otros modelos

Otros muchos modelos han sido aplicados a los biofiltros. Algunos autores incluyen nuevas consideraciones, siendo las más significativas:

Cherry and Thompson (1997) incluyen en el modelo los requerimientos energéticos de la bacteria para mantenimiento. El modelo intenta explicar los fenómenos de ausencia de crecimiento que se producen a veces en los biofiltros, al cabo de tiempos largos de operación. Al cesar el crecimiento se produce una disminución de la eliminación, puesto que el consumo de energía de mantenimiento es mucho menor en comparación con el de crecimiento.

Alonso *et al.* (1999) distinguen entre biomasa activa y no activa. Describe un modelo matemático aplicado a la degradación de VOCs (dietil eter) en un biofiltro de escurrimiento, considerando tres fases: gas, líquido/biopelícula y biomasa no uniforme.

Amanullah *et al.* (1999) describen un modelo que tienen en cuenta los fenómenos de transporte, los procesos físico-químicos y biológicos que tiene lugar durante la biofiltración (convección, dispersión, adsorción, absorción, difusión, reacción y características de la biopelícula.). El objetivo de los autores es ver que nivel de complejidad del modelo se requiere para lograr una correcta estimación de su funcionamiento.

Baquerizo *et al.* (2005) desarrollan y validan un modelo matemático en la eliminación de amoníaco. El modelo incluye los efectos inhibitorios del amoníaco libre y del ácido nitroso libre.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. ELIMINACIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO EN AIRE MEDIANTE *Thiobacillus thioparus* INMOVILIZADO EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO EMPAQUETADO CON ESPUMA DE POLIURETANO

3.1.1. Microorganismo

Para llevar a cabo la oxidación biológica del ácido sulfhídrico se empleó la cepa *Thiobacillus thioparus* (ATCC 23645). *Thiobacillus thioparus* pertenece al reino *Eurobacterium* y a la familia *Thiobacillaceae*. Morfológicamente es una bacteria en forma de barra fina acortada con un tamaño entre 0,5 y 1,0-3,0 μm (Figura 14). Posee un flagelo polar que le da motilidad y a veces se disponen en pares y/o cadenas cortas.

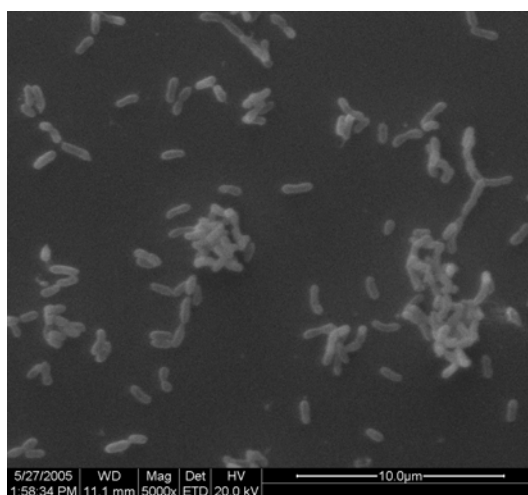


Fig 14. Imagen SEM. Cultivo *Thiobacillus thioparus*

Las colonias en medio agar-tiosulfato son pequeñas (menos de 0,5 mm de diámetro), de forma circular, con elevación convexa y amarillas debido a la precipitación de azufre, siendo opacas en el centro al cabo de una larga incubación (Figura 15).

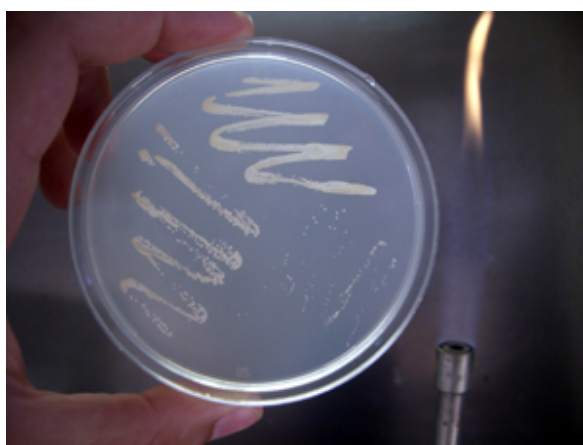


Fig 15. Colonias de *Thiobacillus thioparus*

Es una bacteria estrictamente aerobia y autótrofa. Obtiene la energía de la oxidación de tiosulfato a sulfato, aunque también oxida o reduce parcialmente otros compuestos de azufre, incluyendo el ácido sulfhídrico (H_2S), metil mercaptano (CH_3SH ; MM), dimetil sulfuro ($(\text{CH}_3)_2\text{S}$; DMS), dimetil disulfuro ($(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$; DMDS), disulfuro de carbono (CS_2) y azufre elemental. Su hábitat es el fango, suelo, canales de agua y otras fuentes de agua dulce, encontrándose extensamente distribuida.

El óptimo de temperatura es de 28°C y el óptimo de pH es entre 6,6-7,2, aunque ocurre crecimiento entre pH 4,5-7,8 (Brenner *et al.*, 2006).

3.1.2. Medio de cultivo

La composición del medio de crecimiento empleado para el crecimiento de la cepa fue el recomendado por la ATCC (Medio ATCC 290: S6 medium for *Thiobacillus*). La composición en gramos por litro es: 1,2 g de Na_2HPO_4 , 1,4 g de KH_2PO_4 , 0,1 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,03 g de CaCl_2 , 0,02 g de FeCl_3 , 0,02 g de MnSO_4 y 10,0 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Se disolvieron todos los compuestos menos el FeCl_3 , que se esterilizó por filtración, añadiéndose al medio esterilizado en autoclave (121°C , 20 min). El pH final del medio se ajustó a 7,0 mediante la adición de NaOH , conservándose en oscuridad a 4°C .

3.1.3. Procedimiento de propagación y conservación

La cepa se conservó en tubos inclinados con medio sólido (composición del medio sólido igual al medio ATCC 290 con un 1,5% p/v de agar-agar). A los 4-5 días de incubación, una vez se observen las colonias, se pasa a conservar los tubos a 4°C, realizando trasposos de las cepas a otros tubos inclinados cada seis meses.

Para la conservación de la cepa en medio líquido es necesario realizar un trasposo líquido-líquido semanalmente. Se utilizaron erlenmeyers de 250 ml con 100 ml de medio ATCC 290 inoculado al 5% y mantenido en agitador incubador (*Gerhardt* Thermoshake THO5/THL5) a 30°C y 150 rpm.

Para escalar la cepa desde los tubos inclinados, se inoculó con asa de siembra 10 ml de medio ATCC 290 incubando a 30°C durante 48 horas; al cabo de este tiempo se utilizó como inóculo de 90 ml de medio fresco, incubando el cultivo en incubador agitador a 150 rpm y 30°C.

Se puede apreciar crecimiento a simple vista por la formación de azufre elemental, que vuelve el cultivo color amarillo pálido. Al dejarlo en reposo se aprecia el azufre sólido en el fondo.

3.1.4. Cinética de crecimiento

Se realizó la inoculación de 95 ml de medio ATCC 290 con 5 ml procedentes de un cultivo de 10 ml sembrado a partir de un tubo inclinado e incubado 48h a 30°C. Se incubó en agitador incubador a 30°C y 150 rpm. Los parámetros medidos para el estudio de la cinética de crecimiento fueron: biomasa total, concentración de sustrato (tiosulfato), concentración de producto (sulfato) y pH. Para obtener el azufre elemental se realizó un balance de materia al sistema.

3.1.5. Características del soporte

El material utilizado como soporte para la bacteria fue espuma de poliuretano. La espuma de poliuretano empleada tiene una densidad 20 kg/m³ y una porosidad del 96%. Se utilizaron

cubos de 1 cm³ obtenidos a partir de una plancha de espuma de 1 cm de espesor (Figura 16). La superficie específica de la espuma de poliuretano es de 600 m²m⁻³ (Devinny *et al.*, 1999).



Fig 16. Cubos de espuma de poliuretano

3.1.6. Desarrollo y adaptación de biopelículas

Para crear la biopelícula de *Thiobacillus thioparus* se van a utilizar dos técnicas, la primera de ellas se realizará en matraces mediante la inmersión del soporte en un cultivo sumergido (inmovilización en matraces), y la segunda se realizará en la misma columna que se va a utilizar como biofiltro de escurrimiento (inmovilización in situ). La técnica de inmovilización en matraces nos permitirá conocer la capacidad máxima de adhesión al soporte, para poder comparar con la técnica in situ, la cual es mucho más fácil de emplear a la hora de un escalamiento.

3.1.6.1. Inmovilización en matraces

Para colonizar la espuma de poliuretano se realizó la inmersión del soporte en un cultivo con *Thiobacillus thioparus* (ATCC 23645). Se emplearon tres matraces erlenmeyers de un litro, conteniendo cada uno: 500 ml de medio ATCC 290, 100 ml de inóculo y 3,5 g de unidades de soporte de 1 cm³. El inóculo fue obtenido de un cultivo en fase exponencial crecido según la técnica de conservación mediante trasposos líquido-líquido.

Los matraces fueron incubados en un incubador agitador a 150 rpm y 30°C. El parámetro seguido durante la inmovilización fue la concentración de sustrato; una vez que la concentración de sustrato disminuyó hasta un valor próximo a 1 g l⁻¹, se reemplazó el medio líquido por medio nuevo (600 ml), realizando previamente el recuento de la biomasa total inmovilizada en el soporte. En el segundo y sucesivos ciclos, se utilizó como inóculo la propia biomasa inmovilizada en el soporte. Se realizaron varios ciclos consecutivos hasta que la cantidad de biomasa inmovilizada en el soporte fue constante.

3.1.6.2. Inmovilización in situ

Para formar la biopelícula se utilizó la misma columna que se va a emplear como biofiltro de escurrimiento. Se trata de una columna de PVC transparente de 63 mm de diámetro externo, 1,5 mm de espesor y una altura útil de 320 mm. En ambos extremos se dispusieron dos bridas roscadas de PVC, en la brida inferior se colocó un disco de silicona (espesor 3 mm y perforaciones de 3 mm de diámetro) para soportar el soporte. En la parte superior se colocó un sistema de distribución del líquido que permitió una adecuada distribución de éste (Figura 17) para tener una buena dispersión del medio líquido.

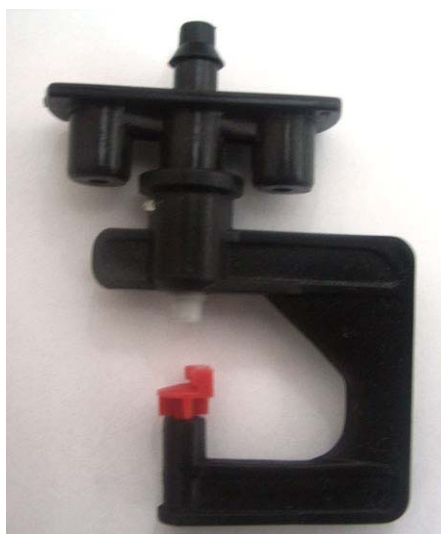


Fig 17. Sistema de distribución del medio líquido utilizado en los biofiltros

Para el relleno se emplearon un total de 10 g de espuma de poliuretano de 1 cm³ teniendo un volumen inicial empaquetado de 1 litro. La columna fue alimentada por cabeza con un cultivo de *Thiobacillus thioparus* crecido utilizando Medio ATCC 290 en un bioreactor de 1 litro con control de temperatura a 30°C (*Heildoph EKT 3001*) y agitado a 200 rpm (*Agitador Selecta Agimatic-N*). El caudal de recirculación fue suministrado por una bomba *EHEIM 1046* con un valor fijo de 308 ml min⁻¹ que corresponde a una velocidad superficial de 5,94 m h⁻¹.

Mediante la percolación del lecho empaquetado con el soporte, se realizó la adhesión de las bacterias al soporte con la consiguiente formación de la biopelícula. Dada la baja velocidad específica de crecimiento, para evitar que se produzca el lavado de la población, se recirculó la corriente de salida del biofiltro al bioreactor. Antes de llegar al agotamiento del sustrato principal, se repuso el medio del bioreactor con medio fresco, dejando en el primer ciclo un 10% como inóculo y retirando la totalidad del medio en los siguientes. De esta forma se garantizó la presencia de bacterias para la formación de la biopelícula. En la Figura 18 se presenta un esquema del sistema empleado.

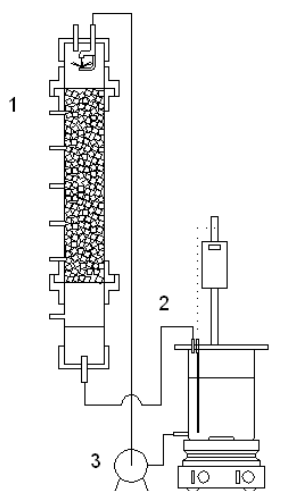


Fig 18. Esquema de inmovilización in situ de la bacteria *Thiobacillus thioparus*
1. Columna de PVC; 2. Bioreactor; 3. Bomba de recirculación

Se realizaron medidas diarias del pH, concentración de tiosulfato, concentración de sulfato y biomasa en suspensión. La biomasa total inmovilizada fue medida al final de cada ciclo de

reposición de medio mediante la extracción de unidades de soporte de la columna. Se realizaron ciclos consecutivos hasta alcanzar una cantidad de biomasa total constante en el soporte.

Una vez conseguida la máxima inmovilización de biomasa, la siguiente fase fue la adaptación de la biopelícula al ácido sulfhídrico. Para adaptar la biopelícula, se cambió el medio de recirculación por un medio formulado de forma idéntica al ATCC 290, pero sin la fuente de sustrato (tiosulfato), iniciando al mismo tiempo la alimentación de H_2S en aire. El caudal de aire empleado fue de 120 l h^{-1} y la concentración de H_2S de entrada de 100 ppmv.

Para la generación de la corriente de aire con H_2S se utilizó el sistema descrito en el apartado 3.1.7.1 de esta Memoria.

3.1.7. Sistema experimental de eliminación de ácido sulfhídrico

El sistema experimental utilizado para la eliminación del ácido sulfhídrico se encuentra representado en la Figura 19. En este sistema, se pueden distinguir claramente tres zonas:

- Generación de la corriente de entrada.
- Biofiltro de escurrimiento.
- Equipos de control y medición.

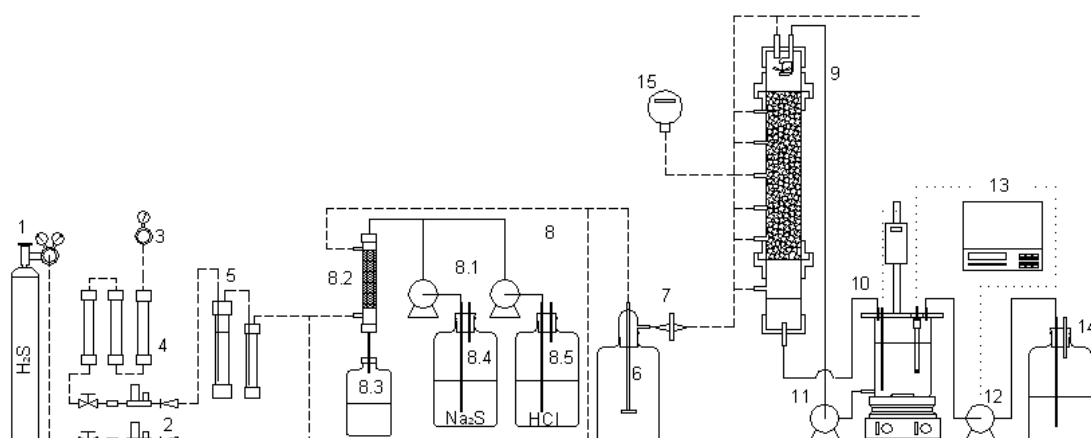


Fig 19. Sistema experimental de eliminación de ácido sulfhídrico

1. Botella gas licuado (H_2S /aire sintético); 2. Controladores flujo másico; 3. Mano-reductor de aire; 4. Prefiltros de aire; 5. Humidificador y trampa de agua; 6. Depósito de expansión; 7. Filtro de aire; 8. Sistema de generación de aire; 9. Biofiltro de escurrimiento; 10. Equipos de control y medición; 11. Sensor; 12. Controlador; 13. Tanque de expansión; 14. Tanque de almacenamiento; 15. Salida.

por reacción química; 8.1 Bombas peristálticas; 8.2. Columna PVC rellena de bolas de vidrio; 8.3. Depósito de recogida de los productos de reacción; 8.4. Depósito Na_2S ; 8.5. Depósito de HCl ; 9. Biofiltro de escurrimiento; 10. Bioreactor; 11. Bomba de recirculación de nutrientes; 12. Bomba de adición de base; 13. Biocontroller; 14. Depósito de NaHCO_3 ; 15. Sensor H_2S .

3.1.7.1. Generación de la corriente de entrada

Para generar la corriente de entrada se dispone de dos metodologías. La primera de ellas, consiste en la utilización de una botella de gases licuados para bajas concentraciones o aquellos casos en los que se necesita una concentración exacta y constante del compuesto. La segunda consiste en la generación a partir de la reacción química entre el HCl y el Na_2S , sistema que se utilizó para altas concentraciones o cuando no era necesario tener una concentración exactamente conocida a la entrada.

Para el primer sistema se utilizó una botella de 50 litros a 150 bar de composición: 0,5% H_2S , 21% O_2 y resto N_2 (suministrador *Air-Liquide*). Esta corriente concentrada (5000 ppmv) se diluye con aire para obtener la concentración y el caudal deseado.

El aire procede de un compresor industrial (línea de gases centralizados de la UCA). Para acondicionar el aire de entrada al sistema se realizó una prefiltración con los siguientes filtros ($\Phi=32$ mm, altura relleno=30 mm):

- Sílica gel: Eliminar posibles restos de humedad.
- Carbón activo: Eliminar posibles restos de aceite.
- Lana de vidrio: Eliminar partículas en suspensión de filtros anteriores.

Los caudales de cada corriente son controlados por controladores de flujo másico (*Bronkhorst F-201C*):

- Rango de caudal controlador flujo de Aire industrial: 0 a 5 lN/min.
- Rango de caudal controlador Aire sintético/ H_2S : 0 a 30 lN/h.

Previamente a la mezcla de ambas corrientes, se realizó la humidificación de la corriente de aire en un humidificador ($\Phi=63$ mm, altura de agua= 40 mm). Se utilizó un difusor de aire para aumentar la transferencia y se dispuso una trampa de agua a la salida del humidificador. Una vez mezcladas ambas corrientes para lograr una mejor homogenización a la entrada, se

pasó la corriente resultante a un depósito de expansión de 2,5 l. Por último, se utilizó un filtro de 0,45 μm para esterilizar la corriente de entrada al biofiltro (Millipore Filter SLG05010).

El sistema anteriormente descrito lo podemos ver en la Figura 20.

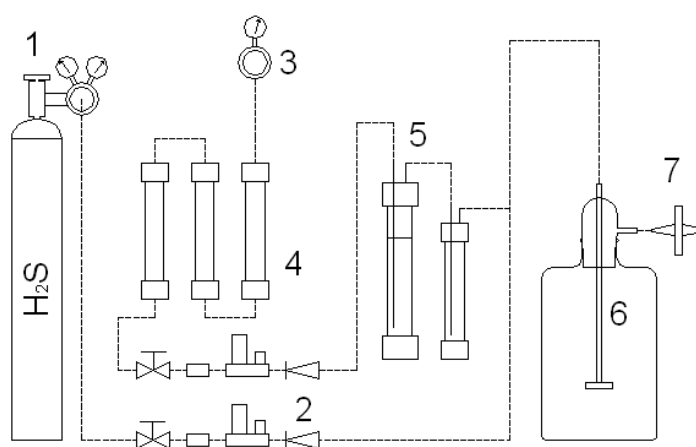
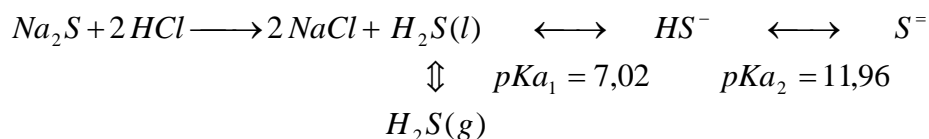


Fig 20. Generación de la corriente de entrada (H_2S) con gases licuados

1. Botella gas licuado (H_2S /aire sintético); 2. Controladores flujo másico; 3. Mano-reductor de aire; 4. Prefiltros de aire; 5. Humidificador y trampa de agua; 6. Depósito de expansión; 7. Filtro de aire.

Para la generación por el segundo sistema, se sustituyó la botella de gas licuado por una columna de PVC transparente de 63 mm de diámetro, empacada de esferas de vidrio de 5 mm de diámetro hasta una altura de 25 mm (Figura 21). Por cabeza de columna se gotearon dos soluciones; una de HCl y otra de Na_2S pasando el aire en contracorriente. En el lecho se produce la siguiente reacción:



El ácido sulfhídrico formado es arrastrado por la corriente de aire. Se prepararon las soluciones de forma que el HCl estuviese en exceso para favorecer la formación de H_2S gaseoso. El producto de reacción (disolución ácida salina) fue recogido en un depósito situado debajo de la columna.

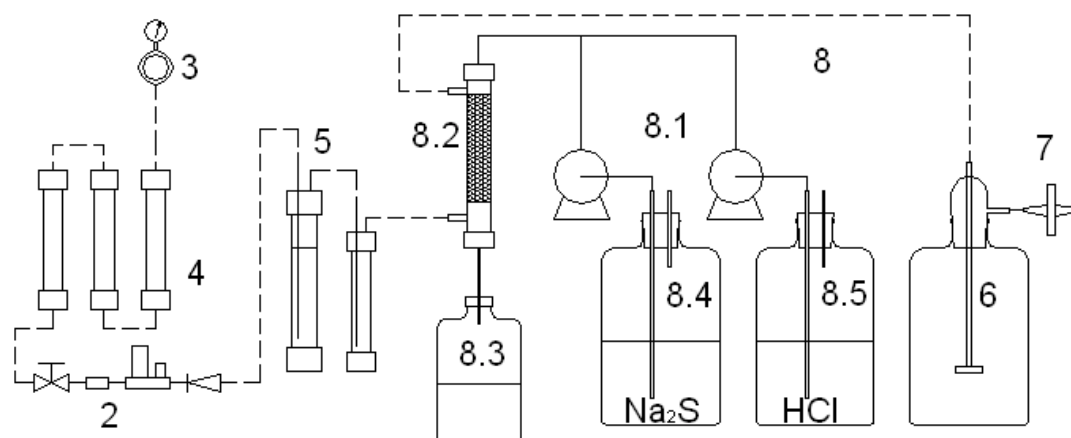


Fig 21. Generación de la corriente de entrada (H_2S) por reacción química

2. Controlador flujo másico; 3. Mano-reductor aire; 4. Prefiltros de aire; 5. Humidificador y trampa de agua; 6. Depósito de expansión; 7. Filtro de aire; 8. Sistema de generación por reacción química; 8.1 Bombas peristálticas; 8.2. Columna PVC rellena de bolas de vidrio; 8.3. Depósito recogida de los productos de reacción; 8.4. Depósito Na_2S ; 8.5. Depósito de HCl .

3.1.7.2. Biofiltro de escurrimiento

Como se ha descrito en el apartado de inmovilización, el biofiltro de escurrimiento es la misma columna en la que se realiza la etapa de inmovilización y adaptación de la biopelícula.

3.1.7.3. Equipos de control y medición

Para el control del pH, así como del caudal de las bombas, se empleó un controlador (*BioController ADI 1030 de Applikon*). Dadas las características del medio, se utilizó un electrodo con diafragma esmerilado (*CRISON 5221*) recomendado para muestras difíciles y con presencia de sulfuros.

La temperatura de trabajo se mantuvo constante a $30^{\circ}C$ mediante el calentamiento del medio de recirculación. Dado el alto caudal de recirculación del medio líquido se logró mantener la temperatura dentro del lecho del biofiltro.

Para medir la concentración de ácido sulfhídrico se utilizó un sensor específico de la marca Crowcon (Modelo *GASFLAG, TXGARD-IS*).

3.1.8. Estudio de la influencia de las principales variables de operación sobre la eficacia del proceso en la degradación de H_2S . Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación

Concretamente, se estudio el efecto del caudal de recirculación de nutrientes, los efectos inhibitorios de la concentración de sulfato, el efecto del pH, de la carga de alimentación y del tiempo de residencia sobre la capacidad de degradación del biofiltro.

3.1.8.1. Estudio del efecto del caudal de recirculación de nutrientes

Para estudiar el efecto del caudal de recirculación sobre la eficacia de eliminación, se ensayaron tres caudales de 308, 182 y 64 ml min^{-1} , respectivamente, que se corresponden con valores de la velocidad superficial del líquido de 5,94; 3,50 y 1,24 m h^{-1} . El ensayo se realizó a un tiempo de residencia del gas de 30 segundos, una carga de alimentación de 11,50 $\text{gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y un pH de 6,5.

Las medidas de la concentración de H_2S se realizaron a distintas alturas de la columna; 0,060, 0,130, 0,205, 0,275 y 0,354 m.

3.1.8.2. Estudio del efecto inhibitorio de la concentración de sulfato

Para estudiar el efecto inhibitorio de la concentración de sulfato en el medio de recirculación, se estudió la disminución de la eficacia de eliminación en un rango de concentraciones desde 3 hasta 10 g l^{-1} de sulfato. Los experimentos se realizaron con un tiempo de residencia del gas de 30 segundos, un caudal de recirculación de 308 ml min^{-1} , una carga de alimentación de 11,50 $\text{gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y un pH de 6,5.

3.1.8.3. Estudio del efecto del pH

Para estudiar el efecto del pH sobre la eficacia de eliminación se fue cambiando el pH del medio de recirculación abarcando un rango desde 6,2 hasta 8,2. Los experimentos se realizaron con un tiempo de residencia del gas de 30 segundos, un caudal de recirculación de 308 ml min^{-1} , una carga de alimentación de 11,5 $\text{gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y una concentración de sulfato por debajo de 5 g l^{-1} .

3.1.8.4. Estudio del efecto de la carga de alimentación

El estudio de la carga de alimentación se realizó en un rango desde cero hasta $55 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$. Para minimizar los efectos derivados de la transferencia de materia, se trabajó con un tiempo de residencia de 150 segundos para poder determinar el máximo de degradación biológica. La concentración de sulfato se mantuvo por debajo de 5 g l^{-1} , el pH entre 7,1 y 7,2 y el caudal de recirculación fue de 308 ml min^{-1} .

3.1.8.5. Estudio del efecto del tiempo de residencia

El estudio del efecto del tiempo de residencia se llevó a cabo para dos valores de carga de alimentación de $11,50$ y $2,90 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y distintos valores del tiempo de residencia del gas de 150, 120, 90, 60, 30, 20 y 11 segundos. El caudal de recirculación fue de 308 ml min^{-1} y el pH se mantuvo en un rango entre 7,1 y 7,2.

3.1.8.6. Estudio del efecto de la pérdida de carga

El estudio del efecto de la pérdida de carga se llevo a cabo con tiempos de residencia del gas de 150, 120, 90, 60, 30, 20 y 11 segundos con el soporte sin colonizar, y una vez establecida la biopelícula con un caudal de recirculación del medio líquido de 308 ml min^{-1} .

3.2. ELIMINACIÓN DE AMONÍACO EN AIRE MEDIANTE *Nitrosomonas europaea* INMOVILIZADA EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO EMPAQUETADO CON ESPUMA DE POLIURETANO

3.2.1. Microorganismo

Para llevar a cabo la oxidación biológica del amoníaco se empleó la cepa *Nitrosomonas europaea* (ATCC 19718). *Nitrosomonas europaea* pertenece al reino *Eubacterium* y a la familia *Nitrobacteraceae*. La familia *Nitrobacteraceae* está compuesta de las bacterias oxidantes de amonio a nitrito fijando dióxido de carbono de la atmósfera como fuente de carbono (Prosser 1989; Stein and Arp 1998a). Todas las bacterias de este grupo son gram-negativas y quimiolitotróficas. *Nitrosomonas europaea* es una bacteria que se aísla frecuentemente, pero no se trata de la bacteria amonio oxidante más frecuente en el medio ambiente. Hay evidencias que la especie *Nitrosolobus* es la especie amonio oxidante más abundante en suelos, *Nitrospira* en los suelos ácidos y *Nitrosococcus* en el medio marino (Prosser 1989). En la mayoría de los estudios realizados con bacterias amonio oxidantes se han utilizado bacterias de tipo *Nitrosomonas europaea*, esto se debe posiblemente a que crece más rápidamente que otras bacterias de la misma familia.

En su metabolismo interfieren dos tipos de enzimas. La amonio monooxigenasa (AMO) que cataliza la oxidación de amonio (NH_3) a hidroxilamina (NH_2OH) y la oxidoreductasa que oxida a hidroxilamina a nitrito (NO_2^-). Hasta hace poco tiempo se pensaba que su crecimiento no era posible en presencia única de hidroxilamina, sin embargo De Bruijn *et al.* (1995) han logrado oxidar hidroxilamina en condiciones anaerobias, siendo el nitrito el aceptor de electrones.

Morfológicamente la familia *Nitrobacteraceae* puede ser muy variada, siendo la bacteria *Nitrosomonas europaea* de forma redondeada con un tamaño entre 0,8-0,9 hasta 1,0-2,0 μm (Figura 22). Posee de uno a dos flagelos, que le dan movilidad, de un tamaño de 3 a 4 veces su longitud.

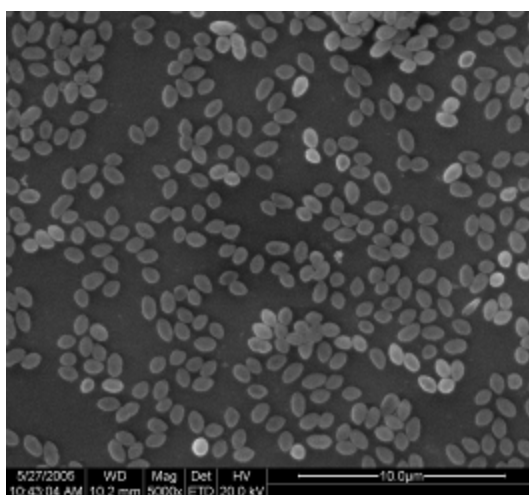


Fig 22. Imagen SEM. Cultivo *Nitrosomonas europaea*

Puede sobrevivir en un pH entre 6,0 y 9,0, siendo el óptimo entre 7,5-8,0. La temperatura óptima de crecimiento está en el rango de 25 a 30°C. Se trata de una bacteria fotosensible por lo que ha de crecer en oscuridad.

En la naturaleza se encuentra en lugares como el suelo, aguas residuales, agua fresca y en las paredes de los edificios, especialmente en áreas muy contaminadas con altos niveles de compuestos nitrogenados.

3.2.2. Medio de cultivo

La composición del medio de crecimiento empleado para el crecimiento de la cepa fue el recomendado por la ATCC (Medio ATCC #2265). Para la preparación del medio se necesitan 3 soluciones:

Solución 1: 4,95 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (para 50 mM NH_4^+), 0,2 g de KH_2PO_4 , 0,27 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,04 g de CaCl_2 , 0,5 ml de FeSO_4 (30 mM en 50 mM EDTA a pH 7,0), 0,2 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 1,2 litros de agua destilada.

Solución 2: 8,2 g de KH_2PO_4 , 0,7 de NaH_2PO_4 en 0,3 litros de agua destilada (pH 8,0 con NaOH 10N).

Solución 3 (buffer): 0,6 g de Na_2CO_3 en 12 ml de agua destilada.

Las 3 soluciones son esterilizadas en autoclave a 121°C durante 20 minutos y mezcladas una vez enfriadas a temperatura ambiente.

3.2.3. Procedimiento de propagación y conservación de la cepa

A partir del cultivo stock de la ATCC (1ml) se realizó la propagación mediante el procedimiento recomendado por esta organización, hasta tener un volumen final en una primera etapa de 10 ml. Este cultivo se utilizó para inocular 90 ml de medio ATCC #2265 en un erlenmeyer de 250 ml, realizando la incubación durante un periodo de 7 días a 30°C, 150 rpm y en un agitador incubador. Una vez crecido, se centrifugó a 15000 rpm y 4°C durante 15 minutos. El pellet obtenido fue resuspendido en 5 ml de medio ATCC #2265 y dispensado en 5 recipientes eppendorf de 1,5 ml, para su posterior conservación a -80°C.

Para la conservación de la cepa en medio líquido es necesario realizar un traspaso líquido-líquido semanalmente. Se utilizaron erlenmeyers de 250 ml con 100 ml de medio ATCC #2265 inoculado al 10% y mantenido en agitador incubador (*Gerhardt Thermoshake THO5/THL5*) a 30°C, 150 rpm y en oscuridad.

Para escalar la cepa desde los eppendorf se siguió el mismo procedimiento que el recomendado por la ATCC.

3.2.4. Cinética de crecimiento

Se realizó la inoculación de 100 ml de medio ATCC #2265 con 2 ml de inóculo. Para preparar el inóculo se realizó la centrifugación (4°C, 15000 rpm y 15 min) de un cultivo de 100 ml resuspendiendo el pellet en 5 ml de medio.

El cultivo se incubó en agitador incubador a 30°C, 150 rpm y en oscuridad. Los parámetros medidos para el estudio de la cinética de crecimiento fueron: biomasa total, concentración de sustrato (amoníaco), concentración de producto (nitrito) y pH.

3.2.5. Características del soporte

El soporte utilizado fue el mismo que el empleado para la inmovilización de *Thiobacillus thioparus*.

3.2.6. Desarrollo y adaptación de biopelículas

Para crear la biopelícula de *Nitrosomonas europaea* se emplearon las mismas técnicas que las utilizadas para crear la biopelícula de *Thiobacillus thioparus*.

3.2.6.1. Inmovilización en matraces

Para colonizar la espuma de poliuretano se realizó la inmersión del soporte en un cultivo con *Nitrosomonas europaea* (ATCC 19718). Se emplearon 2 matraces erlenmeyers de un litro conteniendo cada uno: 500 ml de medio ATCC #2265, 100 ml de inóculo y 3,5 g de unidades de soporte de 1 cm³. El inóculo fue obtenido de un cultivo en fase exponencial crecido según la técnica de conservación mediante trasposos líquido-líquido.

Ambos matraces fueron incubados en un incubador agitador a 150 rpm, 30°C y en oscuridad. El pH, concentración de amoníaco (sustrato) y concentración de nitrito (producto) fueron medidos diariamente. Antes de que el pH bajase de 6,0, se procedió a reemplazar el medio líquido por medio nuevo (600 ml), realizando previamente el recuento de la biomasa total inmovilizada en el soporte. En el segundo y sucesivos ciclos, se utilizó como inóculo la propia biomasa inmovilizada en el soporte. Se realizaron varios ciclos consecutivos hasta que la cantidad de biomasa inmovilizada en el soporte fue constante.

3.2.6.2. Inmovilización in situ

Para formar la biopelícula se empleó el mismo procedimiento que el empleado para la inmovilización de *Thiobacillus thioparus*. La columna utilizada fue idéntica, con la misma cantidad de soporte pero en ausencia de luz. La columna fue alimentada por cabeza con un cultivo de *Nitrosomonas europaea* crecido utilizando Medio ATCC #2265 en un bioreactor de 1 litro con control de temperatura a 30°C (Heildoph EKT 3001), agitado a 200 rpm (Agitador Selecta Agimatic-N) y en oscuridad. El caudal de recirculación fue suministrado por dos bombas EHEIM 1046 conectadas en serie, siendo el caudal alimentado de 445 ml min⁻¹ que se corresponde a una velocidad superficial de 8,57 m h⁻¹. En la Figura 23 se presenta un esquema del sistema empleado.

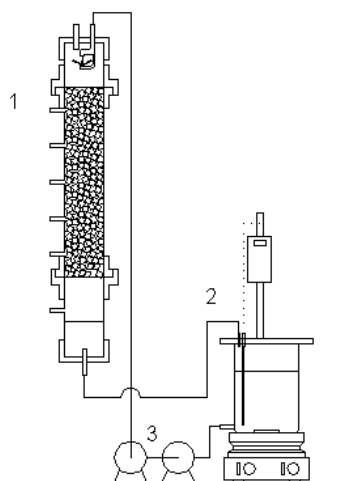


Fig 23. Esquema de inmovilización in situ de la bacteria *Nitrosomonas europaea*

1. Columna de PVC; 2. Bioreactor; 3. Bomba de recirculación.

Se realizaron medidas diarias del pH, concentración de amoníaco, concentración de nitrito y biomasa en suspensión. La biomasa total inmovilizada fue medida al final de cada ciclo de reposición de medio, mediante la extracción de unidades de soporte de la columna a distintas alturas. Se realizaron ciclos consecutivos hasta alcanzar una cantidad de biomasa total inmovilizada constante en el soporte.

Una vez conseguida la máxima inmovilización de biomasa la siguiente fase fue la adaptación de la biopelícula al amoníaco. Para adaptar la biopelícula, se cambió el medio de recirculación por un medio formulado de forma idéntica al ATCC #2265, pero sin la fuente de sustrato (amoníaco), iniciando al mismo tiempo la alimentación de NH_3 en aire. El caudal de aire empleado fue de 120 l h^{-1} y la concentración de NH_3 de 50 ppmv.

Para la generación de la corriente de aire con NH_3 se utilizó el sistema descrito en el apartado 3.2.7.1.

3.2.7. Sistema experimental de eliminación de amoníaco

El sistema experimental fue muy similar al sistema de eliminación de ácido sulfhídrico, donde igualmente se pueden diferenciar tres partes (Figura 24):

- Generación de la corriente de entrada.
- Biofiltro de escurrimiento.
- Equipos de control y medición.

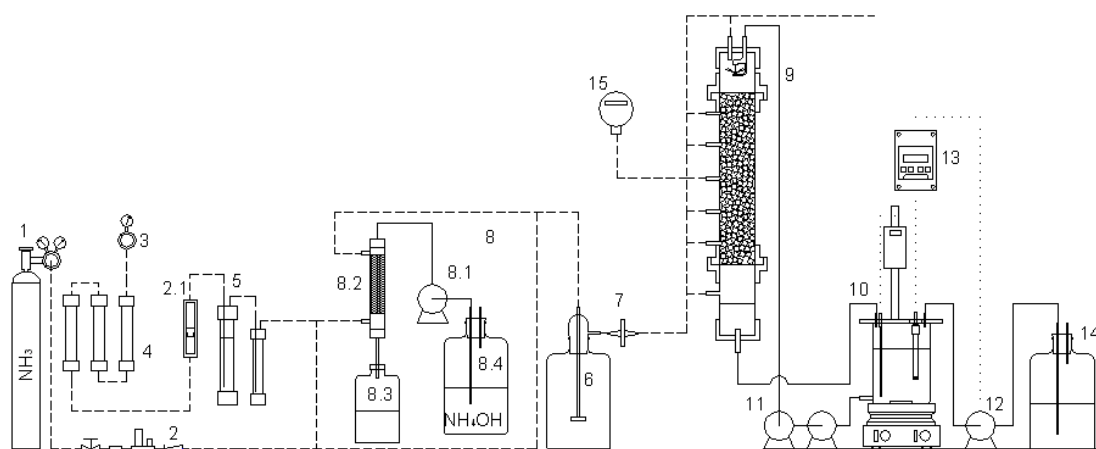


Fig 24. Sistema experimental de eliminación de amoníaco

1. Botella gas licuado (NH_3 /aire sintético); 2. Controlador flujo mássico; 2.1 Rotámetro 3. Mano-reductor de aire; 4. Prefiltros de aire; 5. Humidificador y trampa de agua; 6. Depósito de expansión; 7. Filtro de aire; 8. Sistema de generación por reacción química; 8.1 Bomba peristáltica; 8.2. Columna PVC rellena de bolas de vidrio; 8.3. Depósito de recogida; 8.4. Depósito de NH_4OH ; 9. Biofiltro de escurrimiento; 10. Bioreactor; 11. Bombas de recirculación de nutrientes; 12. Bomba de adición de base; 13. Controlador de pH; 14. Depósito de NaHCO_3 ; 15. Sensor NH_3 .

3.2.7.1. Generación de la corriente de entrada

Para generar la corriente de entrada se dispone de dos metodologías. La primera de ellas consiste en la utilización de una botella de gases licuados para bajas concentraciones y el segundo sistema a partir de la desorción física de NH_3 , de una solución de NH_4OH para altas concentraciones.

Mediante la primera de las metodologías se utilizó una botella de 50 litros a 150 bar, de composición: 0,1% NH_3 , 21% O_2 y resto N_2 , (suministrador Air-Liquide). Esta corriente concentrada (1000 ppmv) se diluye con aire para obtener la concentración y el caudal deseado.

El aire, al igual que el sistema de prefiltración, es el mismo que el utilizado en la eliminación de H_2S .

El caudal de la corriente de aire se regula por medio de un rotámetro (*Brooks instrument BV*: rango: 0 a 150 lN h^{-1}), y el caudal de la corriente NH_3 /aire sintético de la botella de gas licuado se regula por medio un controlador de flujo másico (*Bronkhorst F-201C*: rango de 0 a 30 lN h^{-1}).

Previamente a la mezcla de ambas corrientes se realiza la humidificación de la corriente de aire en un humidificador ($\Phi=63 \text{ mm}$, altura de agua= 40 mm). Se utilizó un difusor de aire para aumentar la transferencia y se dispuso una trampa de agua a la salida del humidificador. Una vez mezcladas ambas corrientes, la corriente resultante pasa a un depósito de expansión de $2,5 \text{ l}$. Por último, se utilizó un filtro de $0,45 \mu\text{m}$ para esterilizar la corriente de entrada al biofiltro (Millipore Filter SLG05010).

El sistema anteriormente descrito lo podemos ver en la Figura 25.

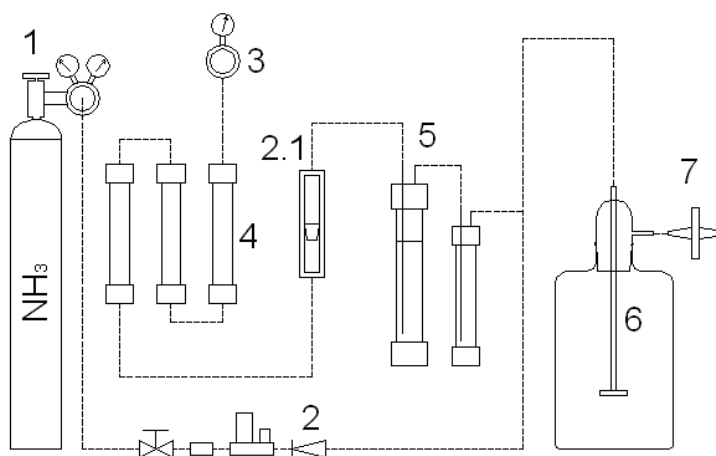
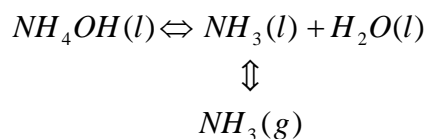


Fig 25. Generación de la corriente de entrada (NH_3) con gases licuados

1. Botella gas licuado (NH_3 /aire sintético); 2. Controladores flujo másico; 2.1. Rotámetro; 3. Mano-reductor de aire sintético; 4. Prefiltros de aire; 5. Humidificador y trampa de agua; 6. Depósito de expansión; 7. Filtro de aire.

Para la generación por la segunda metodología, se sustituyó la botella de gas licuado por una columna de PVC transparente de 63 mm de diámetro, empacada de esferas de vidrio de 5

mm de diámetro hasta una altura de 25 mm (Figura 26). Por cabeza de columna se hizo gotear una solución de NH_4OH pasando el aire en contracorriente. En el lecho se produce la desabsorción física (pK_a 9,259 a 25°C):



Pasando el amoníaco a la fase gaseosa. El efluente líquido de salida de la columna fue recogido en un depósito situado debajo de la columna.

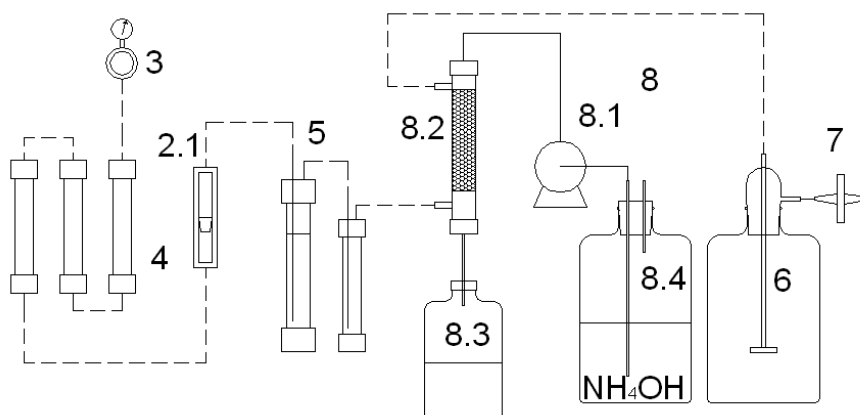


Fig 26. Generación de la corriente de entrada (NH_3) mediante desabsorción

2.1. Rotámetro; 3. Mano-reductor aire; 4. Prefiltros de aire; 5. Humidificador y trampa de agua; 6. Depósito de expansión; 7. Filtro de aire; 8. Sistema de generación por reacción química; 8.1 Bombas peristálticas; 8.2. Columna PVC rellena de bolas de vidrio; 8.3. Depósito de recogida; 8.4. Depósito de hidróxido de amonio

3.2.7.2. Biofiltro de escurrimiento

Como se ha descrito en el apartado de inmovilización, el biofiltro de escurrimiento es la misma columna en la que se realiza la etapa de inmovilización y adaptación de la biopelícula.

3.2.7.3. Equipos de control y medición

Para el control del pH, se utilizó el controlador de pH (CRISON PH28). Dadas las características del medio se utilizó un electrodo con diafragma esmerilado (CRISON 5221) recomendado para muestras difíciles y con presencia de sulfuros.

El mismo controlador (BioController ADI 1030 de *Applikon*) fue empleado para regular el caudal de la bomba que suministra la disolución de NH_4OH para la generación de NH_3 .

La temperatura de trabajo se mantuvo constante a 30°C mediante el calentamiento del medio de recirculación a esta temperatura.

Para medir la concentración de ácido sulfhídrico se utilizó un sensor específico de la marca Crowcon (Modelo *GASFLAG, TXGARD-IS*).

3.2.8. Estudio de la influencia de las principales variables de operación sobre la eficacia de degradación de NH_3 . Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación

En este apartado, se estudió el efecto del caudal de recirculación de nutrientes, el efecto de la concentración de nitrito, del pH, de la carga de alimentación y del tiempo de residencia sobre la capacidad de degradación del biofiltro.

3.2.8.1. Estudio del efecto del caudal de recirculación de nutrientes

Para estudiar el efecto del caudal de recirculación sobre la eficacia de eliminación se emplearon tres caudales de 445, 237 y 83 ml min^{-1} , que se corresponden a velocidades superficiales del líquido de 8,57; 4,55 y $1,59 \text{ m h}^{-1}$, respectivamente. El ensayo se realizó a un tiempo de residencia del gas de 30 segundos, una carga de alimentación de $6,38 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y un pH entre 7,5 y 7,6.

3.2.8.2. Estudio del efecto de la concentración de nitrito

Para estudiar el efecto de la concentración de nitrito en el medio, se observó la evolución de la eficacia de eliminación al aumentar la concentración de nitrito en el medio de recirculación. Los experimentos se realizaron con un tiempo de residencia del gas de 30 segundos, un caudal de recirculación de 445 ml min^{-1} , una carga de alimentación de $6,76 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y un pH entre 7,5 y 7,6.

3.2.8.3. Estudio del efecto del pH

Para estudiar el efecto del pH sobre la eficacia de eliminación se fue cambiando el pH del medio de recirculación abarcando un rango desde 6,5 hasta 8,1. Los experimentos se realizaron con un tiempo de residencia del gas de 30 segundos, un caudal de recirculación de 445 ml min⁻¹, una carga de alimentación de 6,76 gS m⁻³h⁻¹ y una concentración de nitrito por debajo de 150 mM.

3.2.8.4. Estudio del efecto de la carga de alimentación

El estudio de la carga de alimentación se realizó en un rango desde cero hasta 21,7 gN m⁻³h⁻¹. Para minimizar los fenómenos de limitación por la transferencia de materia, se trabajó con un tiempo de residencia de 150 segundos para poder determinar el máximo de degradación biológica. La concentración de nitrito se mantuvo por debajo de 150 mM, el pH se mantuvo entre 7,5 y 7,6 y el caudal de recirculación de nutrientes fue de 445 ml min⁻¹.

3.2.8.5. Estudio del efecto del tiempo de residencia

El estudio del efecto del tiempo de residencia se llevó a cabo con una carga de alimentación de 8,0 gN m⁻³h⁻¹, para tiempos de residencia del gas de 150, 100, 50, 25, 20, 11 y 5 segundos. El caudal de recirculación fue de 445 ml min⁻¹ y el pH se mantuvo en un rango entre 7,5 y 7,6.

3.2.8.6. Estudio del efecto de la pérdida de carga

El estudio del efecto de la pérdida de carga se llevo a cabo con tiempos de residencia del gas de 150, 100, 50, 25, 20, 11 y 5 segundos con el soporte sin colonizar, y una vez establecida la biopelícula con un caudal de recirculación del medio líquido de 345 ml min⁻¹.

3.3. ELIMINACIÓN CONJUNTA DE MEZCLAS H₂S/NH₃ EN AIRE

3.3.1. Estudio del desarrollo de biopelículas mixtas

Para poder llevar a cabo un procedimiento similar al utilizado en la inmovilización por separado de ambas bacterias, se formuló un medio en el cual pudieran crecer ambas bacterias simultáneamente. El principal problema radica en que la bacteria *Nitrosomonas europaea* presenta inhibición cuando la concentración de iones sodio es alta (Hunik *et al.*, 1992), elemento presente en la fuente de sustrato de la bacteria *Thiobacillus thioparus*.

Por tanto, se formuló un medio en el cual se disminuyó la concentración de tiosulfato al 50%, debido a que una disminución mayor no se considera viable ya que la velocidad de consumo de tiosulfato por *Thiobacillus thioparus* es muy alta. También se disminuyó la concentración de amonio de 50 a 30 mM.

La composición en gramos por litro fue: 1,98 g de (NH₄)₂SO₄ (para 30 mM NH₄⁺), 5,0 g de Na₂S₂O₃, 1,2 g de Na₂HPO₄, 1,8 g de KH₂PO₄, 0,1 g de MgSO₄ · 7H₂O, 0,03 g de CaCl₂, 0,02 g de FeCl₃ y 0,02 g de MnSO₄.

Se disolvieron todos los compuestos, menos el FeCl₃, que se esterilizó por filtración, añadiéndose al medio esterilizado en autoclave (121 °C, 20 min). El pH final del medio se ajustó a 8,0 mediante la adición de NaOH, conservándose en oscuridad a 4°C.

Se hicieron ensayos de crecimiento de ambas bacterias por separado, inoculando 90 ml con 10 ml de inóculo para probar la viabilidad del nuevo medio y realizar la inmovilización de forma semejante a la realizada para las bacterias por separado.

3.3.2. Eliminación en dos etapas en serie

Una vez finalizado el estudio de la eliminación por separado de H₂S y NH₃, se realizó un experimento para ver si era viable eliminar una corriente contaminada con H₂S y NH₃, conectando ambos biofiltros en serie. El primer biofiltro fue el de *Nitrosomonas europaea* (BNE) y el segundo biofiltro el de *Thiobacillus thioparus* (BTT). Esta disposición se adoptó debido a la alta solubilidad del NH₃ en agua, por lo que se hace necesaria la colocación del BNE en

primer lugar para que se produzca la degradación del amoníaco en primer lugar, pasando el H_2S al BT^T para su degradación.

Se trabajó con un tiempo de residencia del gas de 60 segundos, una carga de amoníaco constante de $10 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$, un pH entre 7,5-7,6 para el primer biofiltro y entre 7,4-7,5 para el segundo. Se fue aumentando progresivamente la carga de ácido sulfhídrico a valores de 2,9; 7,2; 11,5 y $15,8 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$. El caudal de recirculación en cada biofiltro fue el mismo que el utilizado en los experimentos anteriores, 308 ml min^{-1} para el BT^T y 445 ml min^{-1} para el BNE. La concentración de nitrito se mantuvo por debajo de 150 mM y la de sulfato fue inferior a 4 g l^{-1} .

En la Figura 27 se presenta un esquema del sistema experimental utilizado.

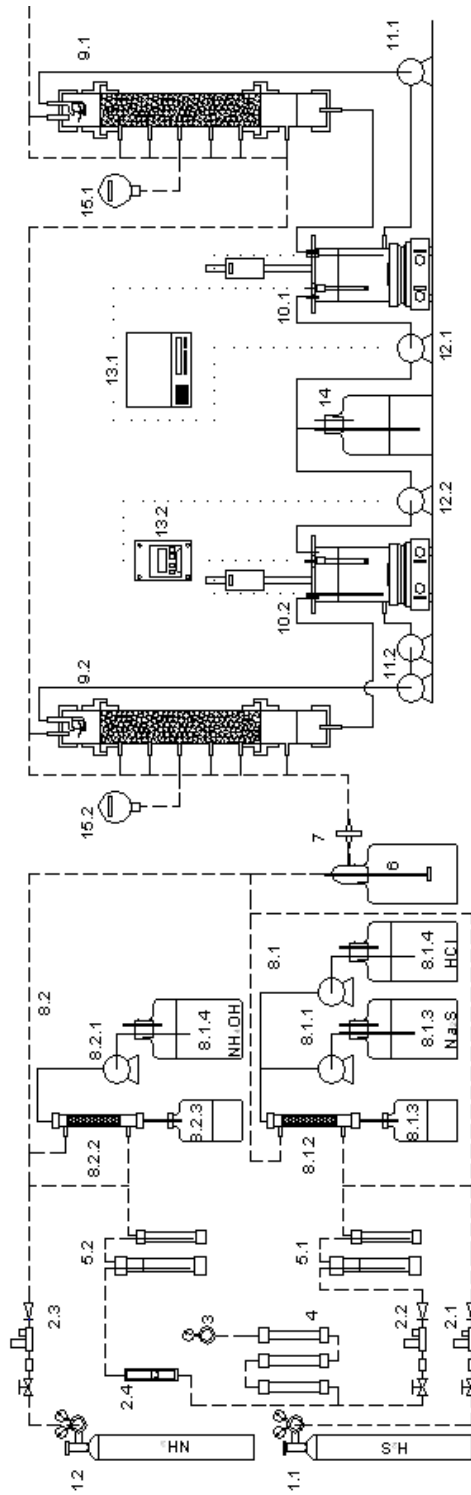


Fig 27. Sistema experimental eliminación en serie

1.1 Botella gas licuado (H_2S /aire sintético); 1.2 Botella gas licuado (NH_3 /aire sintético); 2.1 Controladores flujo másico (CFM) H_2S ; 2.2 CFM Aire; 2.3 CFM NH_3 ; 2.4 Rotámetro aire; 3. Mano-reductor de aire; 4. Prefiltros de aire; 5.1 y 5.2 Humidificadores y trampas de agua; 6. Depósito de expansión; 7. Filtros de aire; 8.1 Sistema de generación de H_2S ; 8.2 Sistema de generación de NH_3 ; 9.1 BTT; 9.2 BNE; 10.1 Bioreactor BTT; 10.2; Bioreactor BNE; 11.1 Bomba recirculación BTT; 11.2; bombas de recirculación BNE; 12.1 Bomba control pH BTT; 12.2 Bomba control pH BNE; 13.1 Biocontroller; 13.2 Controlador pH; 14. Depósito Base NaHCO_3 ; 15.1 Sensor H_2S ; 15.2 Sensor NH_3 .

3.3.3. Eliminación en dos etapas en serie co-inmovilizando ambos microorganismos

Para crear una biopelícula mixta se optó por utilizar un mismo medio de recirculación de nutrientes. De esta forma, se consigue co-inmovilizar los dos biofiltros con ambos microorganismos, y se dispone del BNE con una biopelícula de *Thiobacillus thioparus* sobre la biopelícula de *Nitrosomonas europaea* y, en el BTT, una biopelícula de *Nitrosomonas europaea* sobre la biopelícula de *Thiobacillus thioparus*.

Para formular el medio de recirculación se empleó un 50% de cada medio (ATCC 290 y ATCC #2265). Se utilizó un único bioreactor del cual toman las bombas de recirculación los nutrientes necesarios para ambos biofiltros. Como controlador de pH se empleó el Controlador CRISON PH 28.

Se trabajó con un tiempo de residencia de 60 segundos, un pH entre 7,5-7,6, una concentración de nitrito por debajo de 50 mM, una concentración de sulfato menor de 4 g l⁻¹, un rango de cargas para el NH₃ desde 1,25 hasta 10 gN m⁻³h⁻¹ y entre 2,89 y 7,19 gS m⁻³h⁻¹ para el H₂S. El caudal de recirculación se mantuvo constante al igual que en el experimento anterior con unos valores de 308 ml min⁻¹ para el BTT y de 445 ml min⁻¹ para el BNE.

En la Figura 28 se ha representado un esquema del sistema experimental empleado.

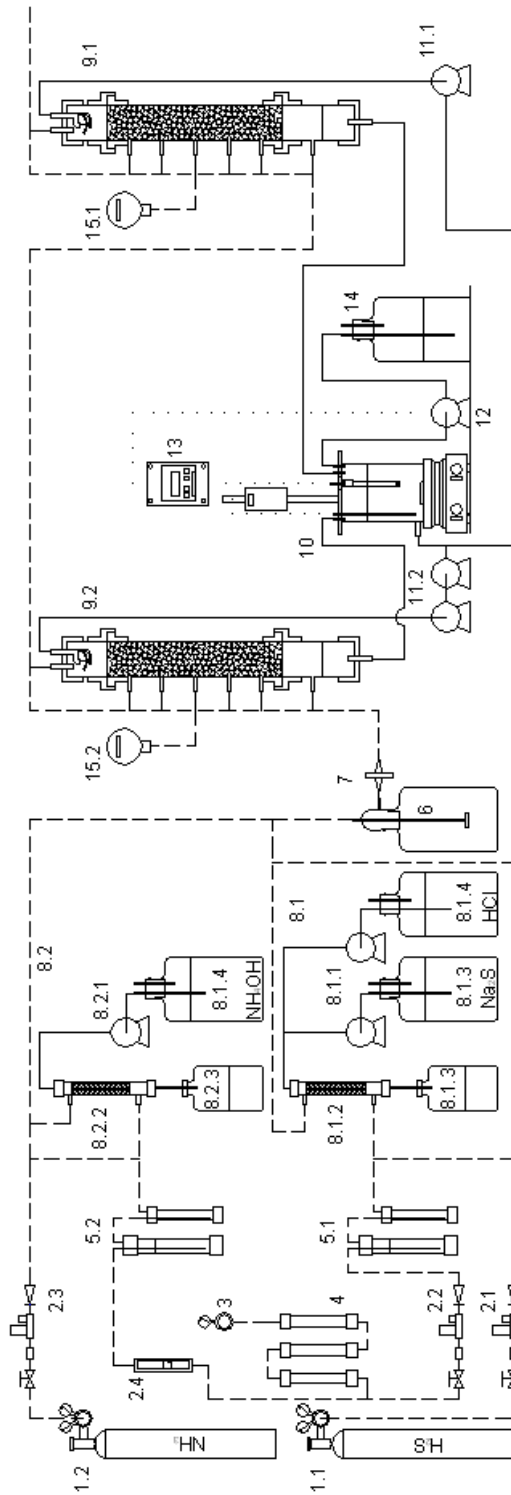


Fig 28. Sistema experimental eliminación en serie. Co-inmovilización

1.1 Botella gas licuado (H_2S /aire sintético); 1.2 Botella gas licuado (NH_3 /aire sintético); 2.1 Controladores flujo máscico (CFM) H_2S ; 2.2 CFM Aire; 2.3 CFM NH_3 ; 2.4 Rotámetro aire; 3. Mano-reductor de aire; 4. Prefiltros de aire; 5.1 y 5.2 Humidificadores y trampas de agua; 6. Depósito de expansión; 7. Filtro de aire; 8.1 Sistema de generación de H_2S ; 8.2 Sistema de generación de NH_3 ; 9.1 BTT; 9.2 BNE; 10 Bioreactor ; 11.1 Bomba recirculación BTT; 11.2 bomba s de recirculación BNE; 12. Bomba control pH; 13. Controlador pH; 14. Depósito Base NaHCO_3 ; 15.1 Sensor H_2S ; 15.2 Sensor NH_3 .

3.3.4. Eliminación en paralelo

Una vez finalizado el experimento de eliminación en serie, se cambió la configuración de ambos biofiltros para pasar a trabajar en paralelo. De esta forma, se puede ver cuál de las dos biopelículas creadas presenta una mayor capacidad de eliminación al tratar mezclas de $\text{H}_2\text{S}/\text{NH}_3$ en aire.

El medio de recirculación empleado fue el mismo que en el experimento anterior, se formuló con un 50% de cada medio (ATCC 290 y ATCC #2265).

Se trabajó con un tiempo de residencia de 60 segundos, un pH entre 7,5-7,6, una concentración de nitrito por debajo de 100 mM, una concentración de sulfato menor de 4 g l^{-1} , un rango de cargas para el NH_3 desde 4 hasta $9 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y entre 2,89 y $10 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ para el H_2S . El caudal de recirculación se mantuvo constante, al igual que en el experimento anterior, con unos valores de 308 ml min^{-1} para el BTT y de 445 ml min^{-1} para el BNE.

Para la generación de la corriente gaseosa se empleó la configuración que se presenta en la Figura 29.

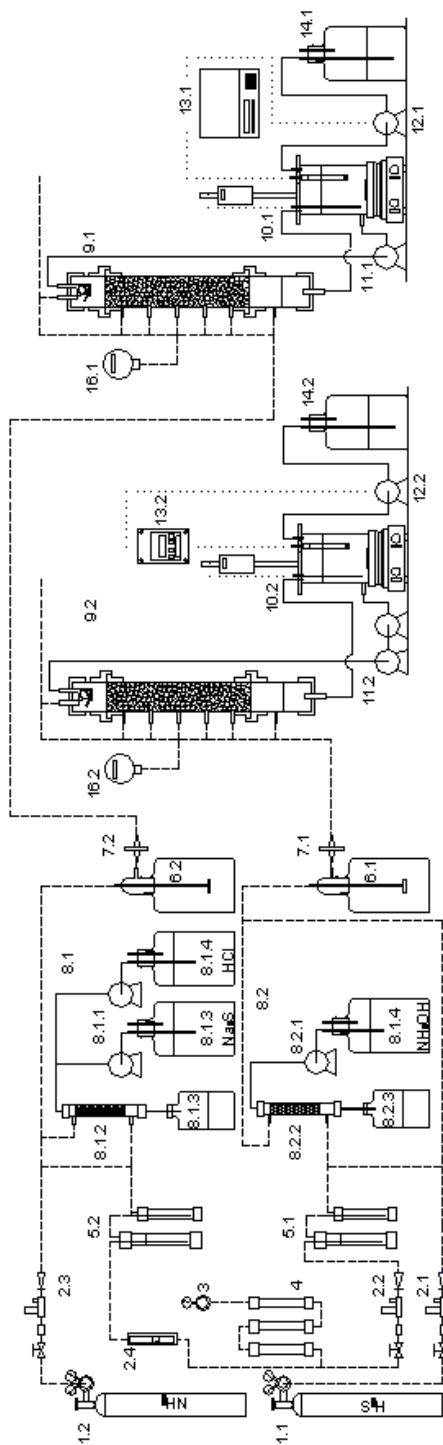


Fig 29. Sistema experimental eliminación en paralelo

1.1 Botella gas licuado (H_2S /aire sintético); 1.2 Botella gas licuado (NH_3 /aire sintético); 2.1 Controladores flujo másico (CFM) H_2S ; 2.2 CFM Aire; 2.3 CFM NH_3 ; 2.4 Rotámetro aire; 3. Mano-reductor de aire; 4. Prefiltros de aire; 5.1 y 5.2 Humidificadores y trampas de agua; 6.1 y 6.2 Depósito de expansión; 7.1 y 7.2 Filtros de aire; 8.1 Sistema de generación de H_2S ; 8.2 Sistema de generación de NH_3 ; 9.1 BTT; 9.2 BNE; 10.1 Bioreactor BTT; 10.2 Bioreactor BNE; 11.1 Bomba recirculación BTT; 11.2 bombas de recirculación BNE; 12.1 Bomba control pH BTT; 12.2 Bomba control pH BNE; 13.1 Biocontroller; 13.2 Biocontroller; 14. Depósito Base NaHCO_3 ; 15.1 Sensor H_2S ; 15.2 Sensor NH_3 .

3.4.MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1. Determinación de la concentración celular

La medida de la cantidad de biomasa total en los medios de cultivo se realizó mediante recuento en cámara de Neubauer (Figura 30). La cámara de Neubauer posee dos zonas de recuento. En la Figura 31 podemos ver un detalle de la zona o cuadrícula de recuento.

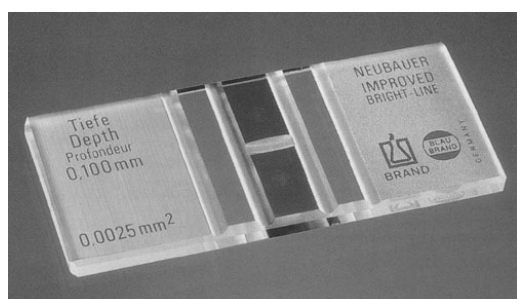


Fig 30. Cámara Neubauer

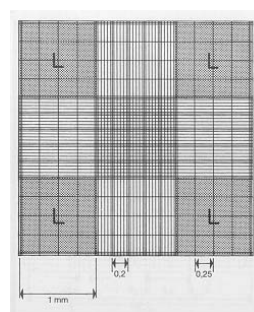


Fig 31. Cuadrícula de recuento

Cada cuadro pequeño tiene un área de $0,0025 \text{ mm}^2$ y al ser la profundidad de $0,100 \text{ mm}$ obtenemos que el cálculo de la concentración celular en millones de células por mililitro viene dado por:

$$\frac{\text{número total de bacterias contadas} \times \text{factor de dilución} \times 4 \cdot 10^6}{\text{número de cuadros pequeños contados}}$$

Para esta cámara el recuento de una diagonal (4 cuadros) equivale directamente al número de bacterias en millones de células por mililitro.

El número de células óptimo debe estar en el rango de 5 a 12 en cada cuadrado pequeño. Al menos debe haber 600 células en el volumen determinado por la cámara para que el recuento sea significativo. Además, se recomiendan múltiples llenados de la cámara para promediar la reproducibilidad del llenado.

En casos de muestras en que las bacterias presenten una alta movilidad, se utiliza para hacer la dilución el diluyente de Norris-Powell. Este diluyente se prepara adicionado 5ml de formaldehído a un litro de agua, se ajusta el pH de la disolución con hidrogeno fosfato disódico entre 7,2 y 7,4 y se añade una pequeña cantidad de dodecilsulfato sódico.

Se empleó un microscopio óptico *Olympus* BH-2 que dispone de 5 objetivos de aumentos x4, x10, x20, x40 y x100, siendo el óptimo para el recuento de x40. La imagen es captada por una cámara analógica y dirigida a un monitor de 14" para su recuento.

3.4.2. Determinación de la biomasa inmovilizada

Para obtener la cantidad de biomasa inmovilizada, se realiza el recuento de bacterias en una unidad de soporte y se divide la cantidad total de biomasa entre el peso del soporte (Gómez *et al.*, 2000; de Ory *et al.*, 2004). Para el recuento de la cantidad de bacterias se toma una unidad de soporte o parte de ella y se elimina el líquido retenido, secando la muestra suavemente con papel absorbente. A continuación, se sumerge en 25 ml de medio estéril y se somete a ultrasonido durante 15 min para provocar la desorción de las bacterias, que permite realizar un recuento de la cantidad total de bacterias mediante la cámara de Neubauer. Para determinar la cantidad exacta de soporte que se ha utilizado en el análisis, se realiza un secado a 80°C en estufa durante 24h. Esta técnica ha sido validada estudiando la resistencia de las células al ultrasonido y la eficacia de desorción de las células del soporte.

3.4.3. Determinación de biomasa viable

Para realizar el recuento de biomasa viable se utilizó la técnica de siembra en placa mediante la realización de diluciones seriadas. Para la preparación del medio con agar-agar se añadió al medio ATCC 290 (*Thiobacillus thioparus*) 15 g de agar-agar por litro de medio (1,5% p/v), para el medio ATCC #2265 (*Nitrosomonas europaea*) se añadió 30 g de agar-agar a la solución 1, de forma que al mezclar las tres soluciones tenemos un 2% p/v.

Cada placa se completó con 20 ml medio. Una vez solidificado, se sembró cada una con 50 µl de cada dilución, por duplicado, incubándose a 30°C y en caso de siembra de *Nitrosomonas europaea* en oscuridad.

Al cabo de 48 h se puede apreciar el crecimiento, pero conviene esperar 4-5 días para poder realizar el recuento de las colonias. Para el recuento se procuró utilizar las placas que contenían entre 30 y 300 colonias. El número de unidades formadoras de colonia o UCF/ml de la muestra original será:

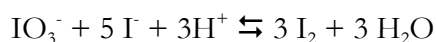
$$\text{Número de UFC/ml} = \frac{\text{Número de colonias} \times \text{factor de dilución}}{\text{ml sembrados}}$$

En el caso de muestras de un cultivo mixto con ambas bacterias, es fácil diferenciar entre una bacteria y otra puesto que cada una crece en su medio específico.

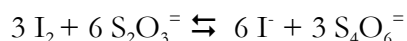
3.4.4. Concentración de tiosulfato y sulfuro total

Para la determinación de tiosulfato y sulfuros se realiza una yodometría (Rodier 1998) . La técnica ha sido simplificada dada la composición del medio.

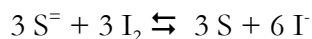
El yodato en medio ácido y en presencia de yoduro produce yodo:



Este yodo reacciona estequiométricamente con el tiosulfato según la ecuación:



Y con el sulfuro según la ecuación:



Dado que ambos compuestos no se encontrarán presentes de forma simultánea en las muestras, se puede obtener mediante valoración con yodo la concentración de cada uno de ellos. En el caso de muestras con ambos compuestos, se añade una solución de carbonato de cinc que elimina el sulfuro presente, pudiendo obtener de esta forma la concentración de cada especie. El nitrito es una especie que interfiere en la valoración, y en estos casos se añade ácido sulfanílico ($\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$).

Las soluciones necesarias son:

- Ácido sulfúrico diluido al 10%.
- Solución de yodo 0,0001M: Añadir 20 ml de la disolución de yodato y 20 ml de la disolución de yoduro potásico y enrasar a un litro. Disoluciones:
 - Yodato (Calidad patrón primario): Pesar exactamente 0,2675 g (secado a 110°C) y disolver en 250 ml agua destilada.
 - Yoduro potásico: Pesar 2,1 g aproximadamente y disolver en 250 ml de agua destilada.

- Engrudo de almidón: Se disuelven 2 g de almidón soluble calidad laboratorio en 100 ml de agua caliente. Se le añaden 0,2 g de ácido salicílico, como conservador.
- Ácido sulfanílico ($C_6H_7NO_3S$): Diluir 7 g en 500 ml

El procedimiento de análisis consiste en filtrar la muestra con un filtro de 0,45 μm y tomar un volumen conocido para proceder a su valoración. Añadimos 1 ml de ácido sulfúrico al 10%, 4 ml de ácido sulfanílico (solo si hay nitritos) y 5 gotas de almidón. Se añade la disolución de yodato hasta el viraje a azul de la muestra.

La concentración de tiosulfato será:

$$C \text{ (g l}^{-1} \text{ S}_2\text{O}_3^{2-}) = M \cdot 6 \cdot 112 \cdot I / V_m$$

siendo: M molaridad de la disolución de yodato ($0,0001 \text{ mol l}^{-1}$); I el volumen gastado en la valoración en ml y V_m el volumen de muestra valorado (0,3 o 0,5 ml para el rango de concentraciones de trabajo)

La concentración de sulfuro será:

$$C \text{ (g l}^{-1} \text{ S}^{2-}) = M \cdot 3 \cdot 32 \cdot I / V_m$$

siendo: M molaridad de la disolución de yodato ($0,0001 \text{ mol l}^{-1}$); I el volumen gastado en la valoración en ml y V_m el volumen de muestra valorado (depende de la muestra).

3.4.5. Concentración de sulfato

El método empleado para la determinación de sulfato fue una modificación del método turbidimétrico clásico (Clescerl *et al.*, 1989). Este método se basa en la reacción que se produce entre el cloruro de bario, en medio ácido, y el sulfato, formándose un precipitado blanco de sulfato de bario. Para conseguir que el precipitado de sulfato de bario se mantenga en suspensión se utiliza una disolución acondicionadora que contiene glicerina y alcohol, de forma que se modifica la viscosidad de la muestra, permitiendo así una turbidez estable. La medida de esta turbidez a 420 nm se relaciona con la concentración de sulfato.

Para llevar a cabo este método de análisis se necesitan una serie de patrones que se detallan a continuación:

- Solución madre de 1000 ppm de $\text{SO}_4^{=}$: Disolver 1,479 g de Na_2SO_4 anhidro secado a 110°C durante 2h, en agua destilada hasta 1 litro. 1 ml de esta solución equivale a 1 mg de $\text{SO}_4^{=}$.
- Solución patrón de $\text{SO}_4^{=}$ (100 ppm): Disolver 100 ml de la solución madre en 1 litro de agua destilada. 1 ml de esta solución equivale a 0,1 mg de $\text{SO}_4^{=}$.

Los reactivos necesarios son los siguientes:

- Solución ácida acondicionadora: Añadir 10 ml de glicerina a una disolución que contenga 6 ml de HCl concentrado, 60 ml de agua destilada, 20 ml de alcohol etílico y 15 g de cloruro de sodio.

Para construir la recta patrón, se preparan los patrones para realizar la recta de calibrado desde 5 hasta 100 ppm de sulfato. A continuación se toman 10 ml de cada patrón y del blanco; se adicionan 0,4 ml de solución ácida acondicionadora, más la punta de una espátula de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Se agita en vortex durante 1 minuto y se deja reposar otro minuto midiendo la absorbancia a 420 nm dentro de los 2 minutos siguientes.

El tratamiento de las muestras se realiza con una filtración previa de la muestra por un filtro de 0,22 μm . A continuación se prepara la dilución necesaria de la muestra hasta un volumen final de 10 ml y se trata de forma análoga a los patrones.

3.4.6. Análisis de ácido sulfhídrico

Para el análisis del ácido sulfhídrico en fase gas se empleó un sensor específico de la marca Crowcon (Model GASFLAG, TXGARD-IS). Este sensor da una relación lineal entre la concentración de H_2S y el voltaje de respuesta del sensor (medido con voltímetro). En ausencia de H_2S , el voltaje es de 40 mV y para concentraciones mayores se puede regular el sensor fijando para cualquier concentración un valor máximo de 430 mV. El coeficiente de regresión lineal (r^2) para todas las calibraciones fue mayor de 0,99. Para la calibración más sensible la variación de $\pm 1\text{mV}$ equivale a $\pm 0,19$ ppmv de H_2S .

3.4.7. Concentración de amoníaco

Para determinar la concentración de amoníaco en medio líquido se utilizó un método colorimétrico, concretamente la nesslerización directa (Clescerl *et al.*, 1989). El reactivo Nessler ($I_2Hg\ 2IK$) reacciona con el amonio originando un compuesto pardo rojizo o amarillo, dependiendo de la concentración de amonio, que permite la determinación colorimétrica del ión amonio.

Las soluciones necesarias son:

- Solución madre de nitrógeno amoniacal ($1000\ mg\ NH_3\ l^{-1}$): Disolver 3,147 g de NH_4Cl secado a $100^\circ C$, en agua destilada exenta de amoníaco hasta 1 litro (1 ml de esta solución equivale a 1 mg de NH_3).
- Solución patrón de nitrógeno amoniacal ($10\ mg\ NH_3\ l^{-1}$): Diluir 10 ml de la solución madre hasta 1 litro con agua exenta de amoníaco. (1 ml equivale a 0,01 mg de NH_3).
- Solución NaOH 6N (24g de NaOH en agua destilada hasta 100 ml)
- Solución de $ZnSO_4$ al 10%.
- Solución de Sal de Rochelle: Disolver 50g de tartrato sódico potásico tetrahidratado $C_4H_4O_6KNa\ 4H_2O$ en 100 ml de agua exenta de amoníaco.
- Nessler: Reactivo comercial de Hach (Nessler Reagent 2119432).

El reactivo debe producir el color amarillo característico con $0,1\ mg\ de\ NH_3\ l^{-1}$ dentro de los diez minutos siguientes a su adición y no debe producirse precipitado con pequeñas cantidades de amoníaco en un intervalo de tiempo de dos horas.

Para la construcción de la recta patrón, se preparan patrones desde 0,5 hasta 6 ppm de NH_3 . Se toman 5 ml de cada patrón y del blanco, se le adicionan 0,1 ml de la solución de sal de Rochelle (para evitar la precipitación de los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} presentes), 0,1 de Nessler y se homogeneiza. Después de un tiempo de reacción de 20 minutos, se mide la absorbancia de la solución a 425 nm.

El tratamiento de las muestras se realiza con una filtración previa por un filtro de $0,22\ \mu m$. A continuación se prepara la dilución necesaria de la muestra hasta un volumen final de 10 ml,

y se le añaden 0,1 ml de solución de sulfato de cinc. Tras agitación, se agregan 50 μ l de NaOH 6N para obtener un pH cercano a 10,5. Se deja reposar para que sedimente el precipitado, debiendo quedar el líquido sobrenadante incoloro y transparente, aunque se puede centrifugar, si es necesario.

Se toman 5 ml del líquido sobrenadante, a los que se añaden 0,1 ml de solución de sal de Rochelle, 0,1 ml de Nessler y se homogeneiza. Después de un tiempo de reacción de 20 minutos, se mide la absorbancia de la solución a 425 nm.

3.4.8. Concentración de nitrito

El nitrito (NO_2^-) se determina por la formación de un colorante azo púrpura rojizo, producido a pH 2,0 a 2,5 por acoplamiento de sulfanilamida diazotada con diclorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamida.

Las soluciones necesarias son:

- Reactivo de colorante: se añaden 160 ml de agua a 20ml de ácido fosfórico 85% y 2 g de sulfanilamida. Tras disolver completamente la sulfanilamida, se adicionan 0,2 g de N-(1-naftil)-etilendiamida, se mezcla para favorecer la disolución y se diluye con agua hasta 200 ml. La disolución es estable durante un mes, si se conserva en frigorífico y en un frasco oscuro.
- Solución madre de nitrito (A) de 100 mg l^{-1} de $\text{N}(\text{NO}_2^-)$. Se pesan 0,49286 g de nitrito sódico cristalizado NO_2Na (desecar 1h a 105°C) y se disuelve en 1000 ml de agua destilada. Se conserva con 1 ml de CHCl_3 .
- Soluciones intermedia de nitrito (B) de 10 mg l^{-1} . Se toman 100 ml de la solución anterior de 100 mg l^{-1} (A) y se diluyen hasta 1000 ml con agua destilada.
- Solución patrón (C) de 1 mg l^{-1} de $\text{N}(\text{NO}_2^-)$. Se toman 100 ml de la solución anterior de 10 mg l^{-1} (B) y se diluyen hasta 1000 ml con agua destilada para conseguir la solución patrón.

La recta patrón se construye a partir de patrones que van desde 0,05 hasta 1 mg l^{-1} de $\text{N}(\text{NO}_2^-)$. Se toman 10 ml de cada patrón y del blanco y se agregan 0,4 ml del reactivo

colorante. Después de un tiempo de reacción de 10 minutos, se mide la absorbancia de la solución a 543 nm (que presenta un color estable durante 2 horas).

Las muestras se filtran a través de un filtro de 0,22 μm , se preparan las diluciones necesarias hasta un volumen final de 10 ml y se tratan igual que los patrones.

3.4.9. Análisis de amoníaco

Para el análisis del amoníaco en fase gas se empleó un sensor específico de la marca Crowcon (Model GASFLAG, TXGARD-IS). Este sensor da una relación lineal entre la concentración de H_2S y el voltaje de respuesta del sensor (medido con voltímetro). En ausencia de NH_3 , el voltaje es de 40 mV y para concentraciones mayores se puede regular el sensor fijando para cualquier concentración un valor máximo de 430 mV. El coeficiente de regresión lineal (r^2) para todas las calibraciones fue mayor de 0,99. Para la calibración más sensible la variación de $\pm 1\text{mV}$ equivale a $\pm 0,26$ ppmv de NH_3 .

3.4.10. Pérdida de carga

Para la medida de la pérdida de carga se utilizaron dos tubos de vidrio conectado cada uno de ellos al biofiltro. Un extremo se conectó a la entrada de gas y el otro a la salida, obteniéndose en una escala graduada la pérdida de carga en milímetros de agua.

3.4.11. Preparación de muestras para microscopía electrónica de barrido

Para obtener imágenes de microscopía electrónica de barrido de los microorganismos, se utilizó un microscopio electrónico FIE Quanta 200 (Philips).

La preparación de la muestra difiere según se encuentren las bacterias en suspensión o adheridas a un soporte. Así para las bacterias en suspensión, se centrifuga la muestra a 7500g durante 10 min a 4°C, se elimina el sobrenadante y se deposita el pellet sobre un cubreobjetos de 20 mm tratado con polilisina durante 10 min. La polilisina se deposita previamente y se retira el exceso antes de poner la muestra con papel adsorbente. Los cubreobjetos se depositan en un recipiente verticalmente para la fijación con glutaraldehído.

En el caso de las bacterias adheridas en espuma de poliuretano, se toma una pequeña porción de soporte y se elimina la biomasa ocluida con papel adsorbente, a continuación se procede a la fijación con glutaraldehído.

El proceso de fijación con glutaraldehído es idéntico para ambos casos, se sumerge la muestra con una disolución de glutaraldehído al 2,5% en tampón cacodilato de sodio (0,1M, pH 7,2) y se deja actuar durante 1 hora. En la bibliografía hay técnicas similares que en lugar de una 1h de fijación utilizan 12 horas a 4°C (Varesche *et al.*, 1997); se utilizaron ambas condiciones de fijación y el resultado fue el mismo, por lo que se decidió adoptar el de menor tiempo.

Al cabo de una hora se elimina el glutaraldehído y se añade tampón cacodilato de sodio (0,1M, pH 7,2) realizando 2 lavados de 10 minutos cada uno. La muestra se puede conservar en tampón cacodilato de sodio y a 4°C hasta su posterior secado hasta punto crítico.

Para realizar el secado hasta punto crítico, se procede a deshidratar la muestra mediante la inmersión en soluciones de concentración creciente de acetona (50%, 70%, 90% y 100%), la duración de cada lavado es de 30 minutos. A continuación, se realiza el secado hasta punto crítico con CO₂ para desplazar la acetona y, por último, el metalizado con oro a vacío (condiciones: 15 mA, 120 segundos, distancia 35 mm).

Las muestras una vez tratadas se conservan en campana de secado hasta su posterior observación al microscopio.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ELIMINACIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO EN AIRE MEDIANTE *Thiobacillus thioparus* INMOVILIZADO EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO EMPAQUETADO CON ESPUMA DE POLIURETANO

4.1.1. Cinética de crecimiento

En el proceso de oxidación de tiosulfato se forma azufre elemental y sulfato, estados de oxidación 0 y 6, respectivamente. A simple vista, podría parecer que la bacteria tiene la capacidad de realizar tanto oxidaciones como reducciones, si suponemos un estado de oxidación de +2 para cada átomo de azufre presente en el tiosulfato. En realidad, lo que ocurren son dos oxidaciones puesto que el estado de oxidación de los dos átomos de azufre presentes en el tiosulfato (S-SO_3^-) son -2 y +5, respectivamente (Vairavamurthy *et al.*, 1993); permitiendo fácilmente la formación de azufre elemental por la oxidación del primer átomo de azufre y la formación de sulfato por oxidación de grupo sulfonato. Esta ruta metabólica ha sido comprobada marcando, con átomos pesados, el átomo con estado de oxidación -2 ($^{35}\text{S-SO}_3^-$), encontrándose que la acumulación de ^{35}S se produce en el azufre elemental (Peck and Fisher 1962).

En la Figura 32, se ha representado la variación del pH, biomasa total, concentración de tiosulfato y de sulfato respecto al tiempo. La concentración de azufre se ha calculado realizando un balance de materia al sistema.

La biomasa inicial fue de $1,6 \cdot 10^7$ cel ml^{-1} , alcanzándose un máximo de crecimiento de $5,7 \cdot 10^8$ cel ml^{-1} a las 46 horas. A las 70 horas se produce el agotamiento de la fuente de sustrato (tiosulfato) con una disminución de pH desde 7,2 hasta 3,8. La concentración de sulfato no superó los 7,0 g l^{-1} . Se puede apreciar que a partir de una concentración de sulfato por encima de 4,0 g l^{-1} se produce una mayor cantidad de azufre elemental.

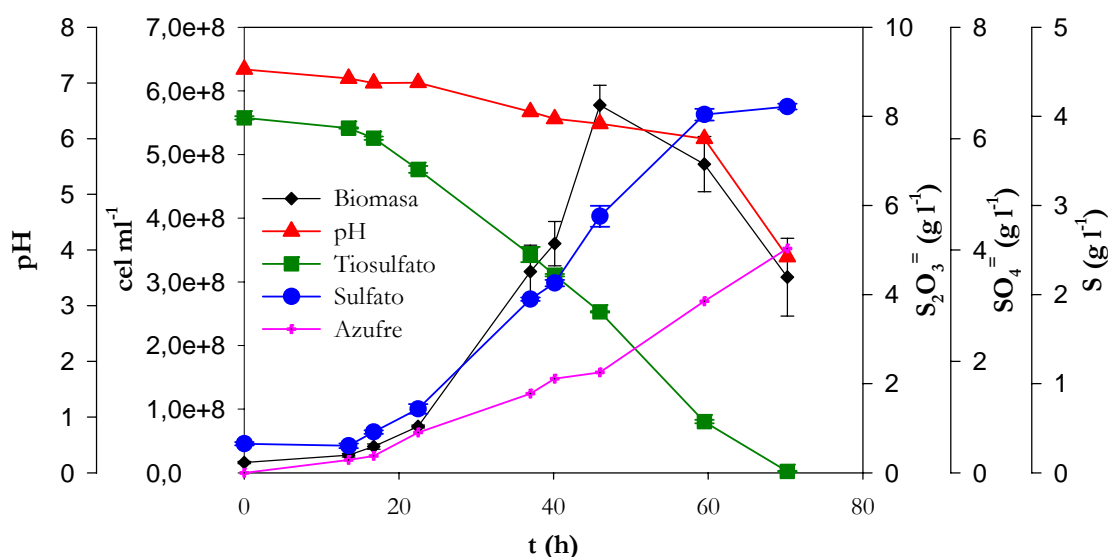


Fig 32. Cinética de *Thiobacillus thioparus*. Concentraciones de biomasa (◆); tiosulfato (■), sulfato (●) azufre (+) y pH (▲)

El la Figura 33 tenemos una imagen del cultivo en la que se aprecia el color amarillo pálido debido a la formación de azufre.

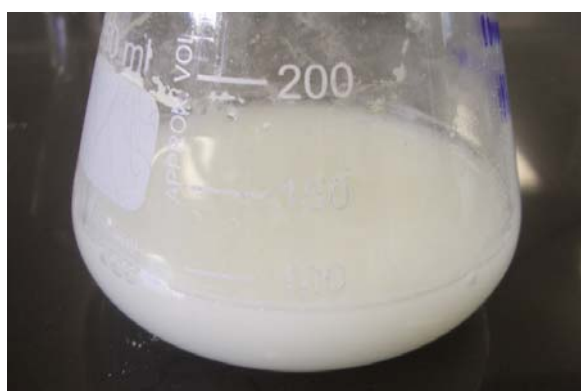


Fig 33. Cultivo crecido de *Thiobacillus thioparus*

Para calcular las velocidades de consumo de tiosulfato y producción de sulfato, se ha supuesto una variación lineal de la concentración en la fase exponencial de crecimiento; obteniéndose una velocidad de consumo de tiosulfato de $0,140 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y una velocidad de

producción de sulfato de $0,128 \text{ g l}^{-1}\text{h}^{-1}$. Los coeficientes de regresión lineal (r^2) fueron de 0,986 y 0,994, respectivamente.

La velocidad específica de crecimiento se puede obtener representando el logaritmo neperiano del cociente de la concentración de biomasa en cada instante y la concentración de biomasa inicial frente al tiempo (Figura 34). De esta forma, se obtuvo una velocidad específica máxima de crecimiento (μ) de $0,0971 \text{ h}^{-1}$, con un coeficiente de regresión lineal (r^2) de 0,993.

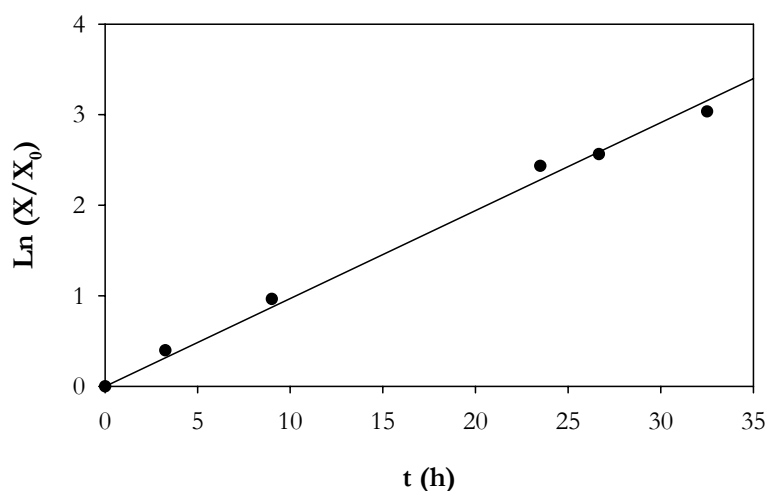


Fig 34. Cálculo de la velocidad específica máxima de *Thiobacillus thioparus*

4.1.2. Desarrollo y adaptación de biopelículas

4.1.2.1. Inmovilización en matraces

Se llevaron a cabo 4 ciclos de inmovilización, sobre tres cultivos en paralelo, con una duración total de 335 horas. La cantidad de biomasa inmovilizada alcanzada fue de $1,69 \pm 0,16 \cdot 10^{11}$ células por gramo de espuma de poliuretano. La duración de cada ciclo fue de 64,5; 93,6; 96,5 y 77,0 horas, respectivamente. En la Figura 35 se representa la evolución del sustrato para cada cultivo.

Los tres cultivos evolucionaron de igual forma, lo que nos permite comprobar la reproducibilidad de la técnica utilizada. Si realizamos el cálculo de las velocidades de consumo de sustrato para los 3 cultivos (Tabla 8), podemos ver que se obtienen prácticamente los mismos valores de estas velocidades.

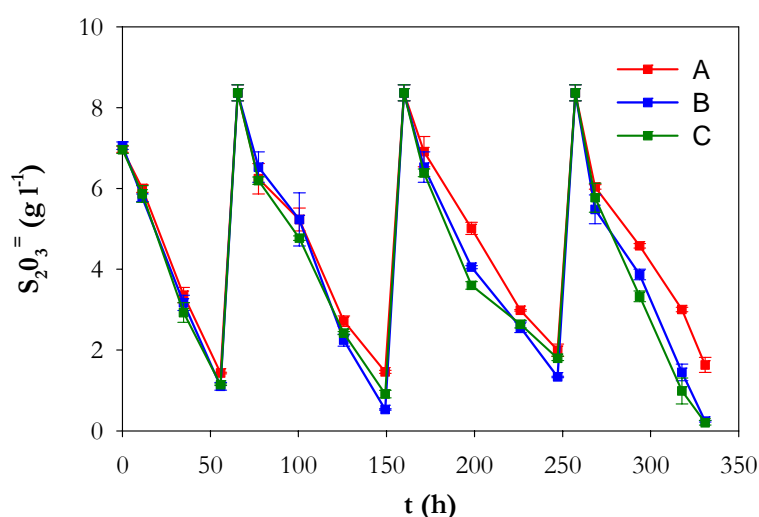


Fig 35. Evolución de las concentraciones de sustrato en la inmovilización en matraces de *Thiobacillus thioparus*

Cultivo	A	B	C
Ciclo	g S ₂ O ₃ ⁼ l ⁻¹ h ⁻¹		
1	-0,086	-0,093	-0,091
2	-0,074	-0,084	-0,080
3	-0,066	-0,073	-0,068
4	-0,087	-0,106	-0,106
media	-0,078	-0,089	-0,086
+/-	0,008	0,011	0,012

Tabla 8. Velocidades de consumo de sustrato en la inmovilización en matraces de *Thiobacillus thioparus*

Si referimos las velocidades de consumo de sustrato al peso total de soporte (Tabla 9), comprobamos que la velocidad de consumo se mantiene prácticamente constante, a pesar de que la biomasa se incrementa notablemente. Este hecho podría relacionarse con un aumento de la resistencia a la transferencia de oxígeno y/o de sustrato en las biopelículas, que limite la velocidad de consumo. La mayor cantidad de biomasa se encuentra inmovilizada en el soporte, y tanto el sustrato como el oxígeno han de difundir hacia la biopelícula. La concentración de oxígeno al trabajar con el soporte sumergido en un medio acuoso será muy

pequeña dada la baja solubilidad de oxígeno, por lo que la hipótesis de la limitación por oxígeno sea probablemente la más acertada.

Cultivo	A	B	C
Ciclos	$\text{g S}_2\text{O}_3^- (\text{g soporte})^{-1} \text{ h}^{-1}$		
1	-0,015	-0,016	-0,016
2	-0,013	-0,014	-0,014
3	-0,011	-0,012	-0,012
4	-0,015	-0,018	-0,018
media	-0,013	-0,015	-0,015
+/-	0,001	0,002	0,002

Tabla 9. Velocidades de consumo de sustrato en cada ciclo de inmovilización en la inmovilización en matraces de *Thiobacillus thioparus*

En la Figura 36 se ha representado la biomasa total inmovilizada y se puede observar que tres ciclos de inmovilización son suficientes para alcanzar un valor de $1,69 \pm 0,16 \cdot 10^{11}$ células por gramo de soporte, sobre un total de 10,5 gramos de soporte utilizado.

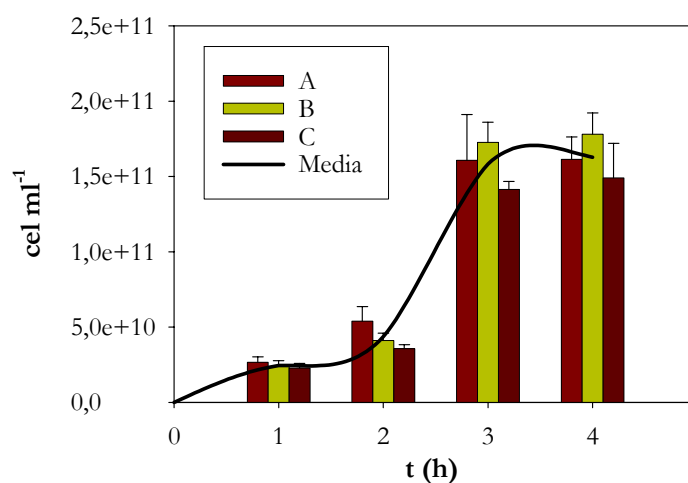


Fig 36. Evolución de la biomasa inmovilizada en la inmovilización en matraces de *Thiobacillus thioparus*

La Figura 37 muestra las imágenes de microscopía electrónica de barrido obtenidas con distintos aumentos.

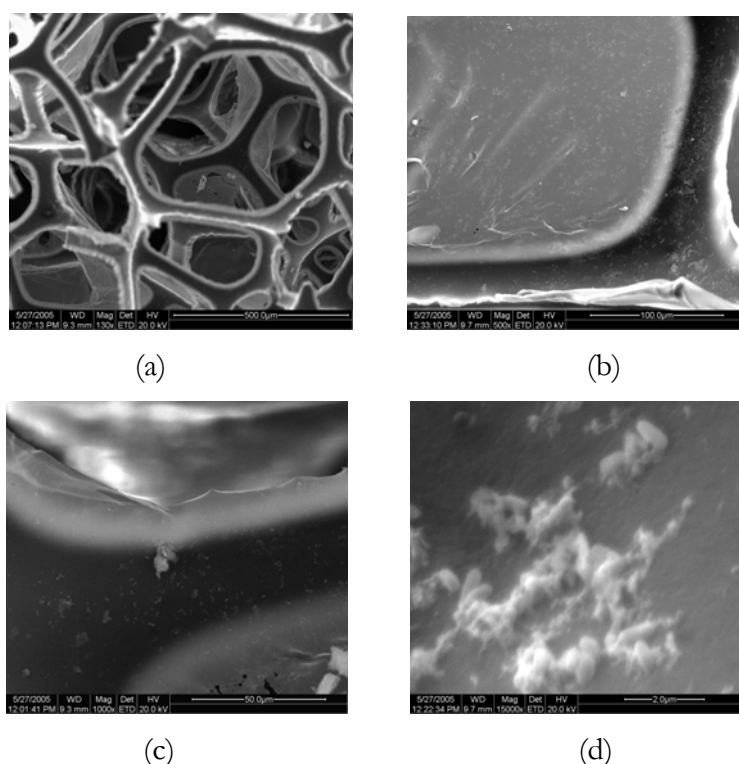


Fig 37. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de *Thiobacillus thioparus* inmovilizado en espuma de poliuretano

Magnificación: (a) x130; (b) x500; (c) x1000; (d) x15000

En las imágenes de microscopía electrónica puede observarse como las bacterias inmovilizadas se distribuyen uniformemente sobre la superficie del soporte.

No existen antecedentes del uso de la espuma de poliuretano para la inmovilización de *Thiobacillus thioparus* como tal, sino como parte de un consorcio microbiano presente en los lodos activos. A pesar de ello, este tipo de bacterias si se han inmovilizado en otro tipo de soportes para su uso en experiencias de biofiltración de TRS.

Recientemente, se ha realizado un estudio de inmovilización de esta bacteria sobre un soporte polimérico con partículas magnéticas (MPB), para la degradación en aguas residuales de sulfuro mediante un reactor de lecho fluidizado, obteniéndose una cantidad de biomasa inmovilizada de $9,3 \cdot 10^9$ células por gramo de soporte (Qiu *et al.*, 2006). Es de destacar, que la cantidad de biomasa inmovilizada en la espuma es 17 veces mayor que en las partículas MPB.

Tanji *et al.* (1989) trabajaron con un BTF inmovilizando *Thiobacillus thioparus* TK-m en anillos de propileno y llegaron a concentraciones de 11,7 g células (peso seco) l⁻¹ en la parte inferior del biofiltro. Cho *et al.* (1992b) trabajaron con un biofiltro utilizando turba como soporte e inocularon *Th. Thioparus* DW44. Al cabo de 120 días de operación obtuvieron una cantidad de $9,50 \cdot 10^7$ CFU (g turba seca)⁻¹ en la parte inferior. De igual forma, Park *et al.* (1993) trabajando con un biofiltro alcanzaron una concentración máxima final de $2,3 \cdot 10^8$ CFU (g turba seca)⁻¹ de *Thiobacillus thioparus* TK-m. Finalmente, Oyarzún *et al.* (2003) inocularon un biofiltro relleno con turba con *Thiobacillus thioparus* alcanzado valores de $2,7 \cdot 10^8$ células (g turba seca)⁻¹.

Por último, este soporte de espuma de poliuretano se ha utilizado para inmovilizar bacterias similares como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, llegando a concentraciones entre $8,0 \cdot 10^{10}$ y $1,2 \cdot 10^{12}$ células por gramo de soporte (Mesa *et al.*, 2002), lo que indica que los valores alcanzados en este estudio están dentro del orden de magnitud para bacterias con cierto grado de similitud.

4.1.2.2. Inmovilización in situ

Se llevaron a cabo 11 ciclos de inmovilización con una duración total de 310 horas. El primer ciclo fue el más largo, con una duración total de 71,50 horas. La duración del resto de ciclos fue muy similar con un tiempo medio de 20 horas.

En todos los ciclos, una vez agotado el sustrato del medio de recirculación, se procedió a retirar dos unidades de espuma de poliuretano del centro del biofiltro para la determinación de la cantidad de biomasa inmovilizada, comprobándose que la inmovilización no fue tan homogénea como en los experimentos de inmovilización en matraces. En la Figura 38 tenemos una fotografía del sistema empleado para la inmovilización.



Fig 38. Fotografía del sistema de inmovilización in situ de *Thiobacillus thioparus*

En la Figura 39 aparece la cantidad de biomasa inmovilizada obtenida para cada muestra. Como se puede apreciar en la Figura, la variación en la cantidad de biomasa inmovilizada desde los primeros ciclos presenta grandes diferencias. Esto es debido a deficiencias en la distribución del medio de recirculación sobre el soporte. Al tomar muestras a una misma altura podía observarse, a simple vista, que la cantidad de biomasa inmovilizada era muy diferente de una muestra a otra, ya que, dependiendo de su posición en la sección, el área expuesta al medio de recirculación era distinta.

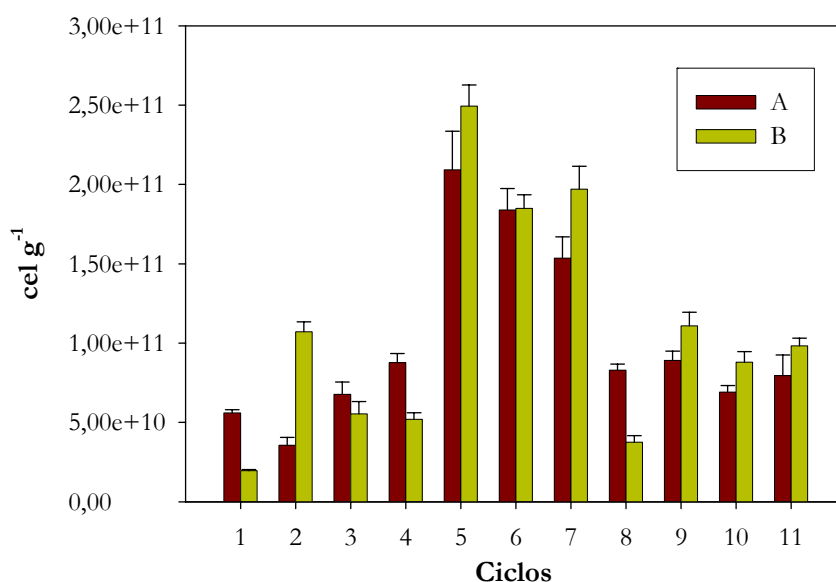


Fig 39. Evolución de la biomasa inmovilizada en la inmovilización in situ de *Thiobacillus thioparus*

Por otra parte fue imposible evitar, dada las dimensiones del biofiltro, los efectos de la pared ya que una gran parte del medio de recirculación fluye pegado a ella, siendo por tanto muy diferente, una unidad de espuma situada justo en la pared del biofiltro que otra situada en el centro de la sección de éste.

Para intentar minimizar la formación de caminos preferenciales se procedió, una vez finalizado el cuarto ciclo, a inundar la columna durante una hora previamente a la reposición del medio, de esta forma se mejoró la homogenización del sistema, así como, acelerar el proceso de inmovilización. Esta inundación también se realizó en los ciclos posteriores.

En las imágenes de la Figura 40 se puede observar como la biopelícula empieza a crecer por las aristas del cubo de espuma de poliuretano en el cuarto ciclo, llegando en los últimos ciclos a cubrir la totalidad de la superficie; lo que provoca que el soporte adquiriera una apariencia mucho más rígida por la formación de precipitados de azufre.

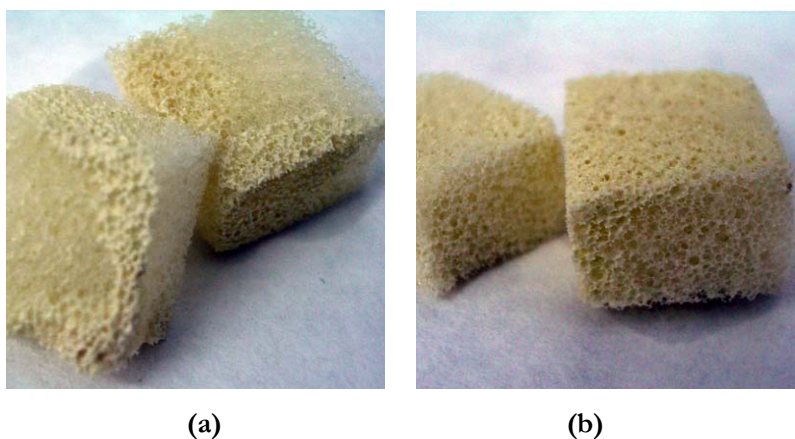


Fig 40. Fotos del soporte en el 4º ciclo (a) y el 11º ciclo (b)

La cantidad de biomasa inmovilizada obtenida como promedio en los cuatro últimos ciclos fue de $8,19 \pm 1,29 \cdot 10^{10}$ células por gramo de soporte, justamente la mitad de la inmovilización conseguida en matraces.

Mediante esta técnica de inmovilización la velocidad de consumo de sustrato no se mantuvo constante, como ocurrió en la técnica de inmovilización en matraces. El aumento de la velocidad de consumo conforme se aumenta el número de ciclos, nos permite corroborar la hipótesis realizada anteriormente sobre limitación de la transferencia de materia del oxígeno, dado que mediante la inmovilización in situ la transferencia de oxígeno desde la fase gas a la biopelícula es mucho más efectiva que en un cubo de espuma sumergido en medio, dada la baja solubilidad del oxígeno en agua.

Si calculamos las velocidades de consumo de sustrato en cada ciclo, referidas a la cantidad de soporte del lecho, se obtiene una velocidad de consumo promedio de $0,038 \text{ (g S}_2\text{O}_3^-) \text{ (g soporte)}^{-1} \text{ h}^{-1}$, valor éste 2,7 veces superior a la velocidad de consumo alcanzada mediante la técnica de inmovilización en matraces.

En la Figura 41 está representada la velocidad de consumo para cada ciclo de inmovilización.

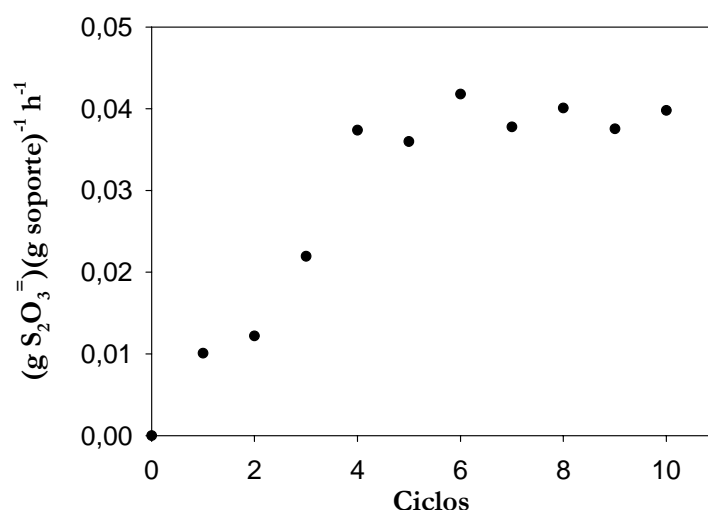


Fig 41. Velocidades de consumo de sustrato en la inmovilización in situ de *Thiobacillus thioparus*

A pesar de tener en este caso la mitad de biomasa inmovilizada, la velocidad de consumo es mucho mayor, por tanto ha de suponerse que el número de bacterias viables también es mucho mayor. La siembra en placa mostró una cantidad de $1,10 \cdot 10^{10}$ CFU por gramo de soporte.

Por todo ello, la velocidad de consumo de sustrato se muestra como un excelente indicador de cuándo se alcanza el máximo de bacterias inmovilizadas. En nuestros experimentos 5º ciclos hubiesen sido suficientes para pasar a la siguiente etapa de adaptación de la biopelícula, lo que supone un tiempo de inmovilización de 7 días, que podría incluso ser menor de haber realizado la inundación de la columna previa a la descarga desde el primer ciclo.

En la Figura 42, tenemos representado la evolución de las concentraciones de tiosulfato, sulfato y biomasa en suspensión frente al tiempo durante el experimento de inmovilización. Como se puede apreciar, al finalizar cada ciclo la concentración de sustrato es prácticamente nula y la cantidad de biomasa libre se mantuvo prácticamente constante en todos los ciclos.

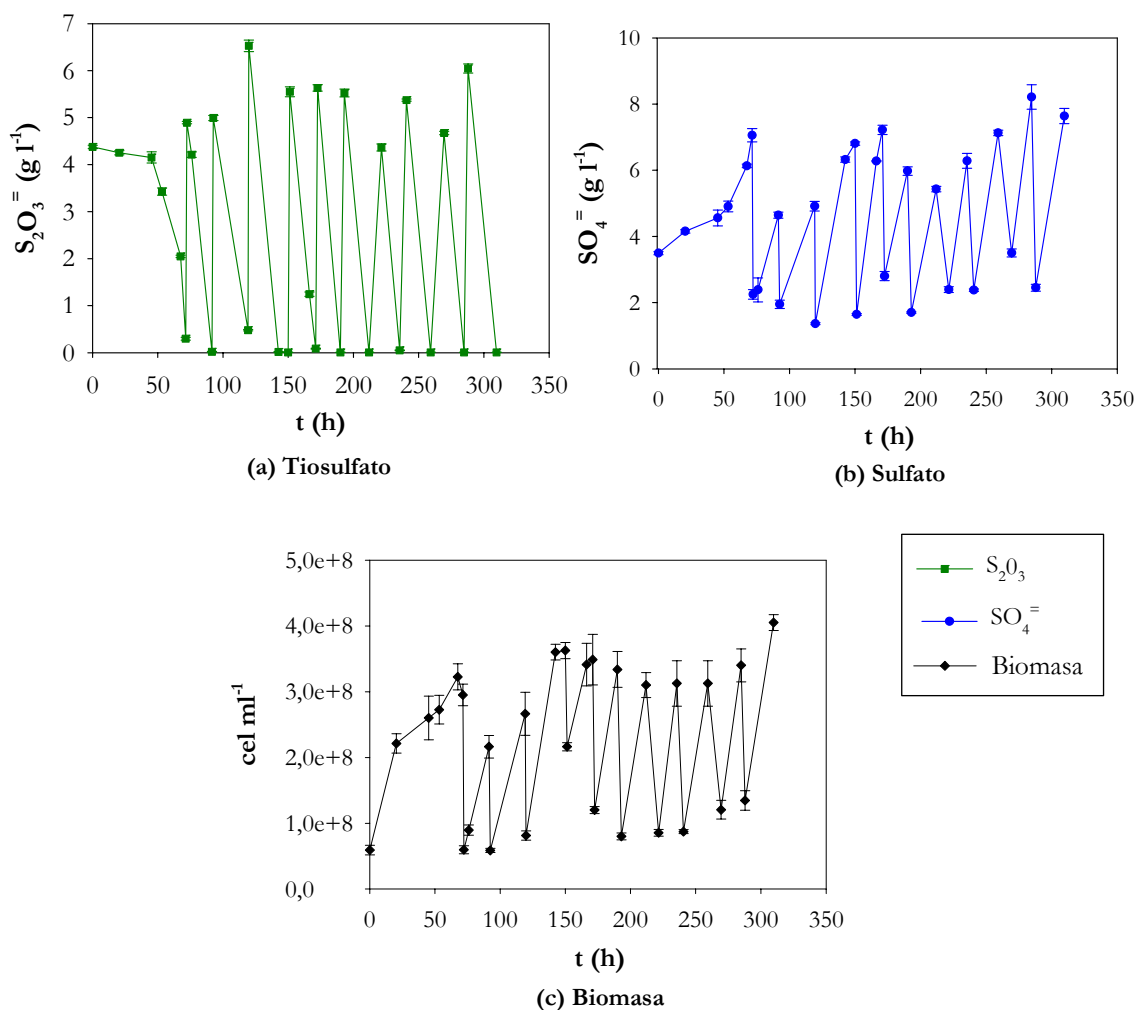


Fig 42. Evolución de las concentraciones de tiosulfato (■); sulfato (●) y biomasa (◆) durante el proceso de inmovilización in situ de *Thiobacillus thioautotrophicus*

4.1.2.3. Adaptación de la biopelícula

En la fase de adaptación de la biopelícula, se sustituye la fuente de sustrato del medio de recirculación por el ácido sulfhídrico que lleva la corriente de aire con un caudal de 120 l h⁻¹ y que se corresponde a un tiempo de residencia de 30 segundos. En la Figura 43, aparecen dos fotografías del sistema de generación de la corriente de aire contaminado. A la izquierda la

generación de H_2S y NH_3 mediante reacción química y desabsorción respectivamente y a la derecha a partir de gases licuados.



Fig 43. Sistemas de generación de la corriente gaseosa de entrada

El pH del medio de recirculación fue controlado entre 6,5 y 6,6, siendo el caudal de recirculación del resto nutrientes de 308 ml min^{-1} .

La carga de alimentación inicial fue de $15,4 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ durante las primeras 182 horas, llegándose a alcanzar un 82,5% de eliminación (Figura 44). La concentración de sulfato fue aumentando progresivamente hasta $5,9 \text{ g l}^{-1}$. Una vez alcanzados estos valores, con objeto de reducir la velocidad de producción de sulfato y lograr una mejor adaptación de la cepa, se fijó la carga en $11,5 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$. Al realizar el cambio de la carga de alimentación se obtuvo un aumento del porcentaje de eliminación hasta un 98,5%, pero al cabo de 72 horas el porcentaje de eliminación de H_2S disminuyó hasta el 75%, manteniéndose constante la concentración de sulfato en 8 g l^{-1} . A las 350 horas se produce un aumento de la concentración de sulfato hasta $10,7 \text{ g l}^{-1}$, que provocó una nueva disminución del porcentaje de eliminación hasta un 52%.

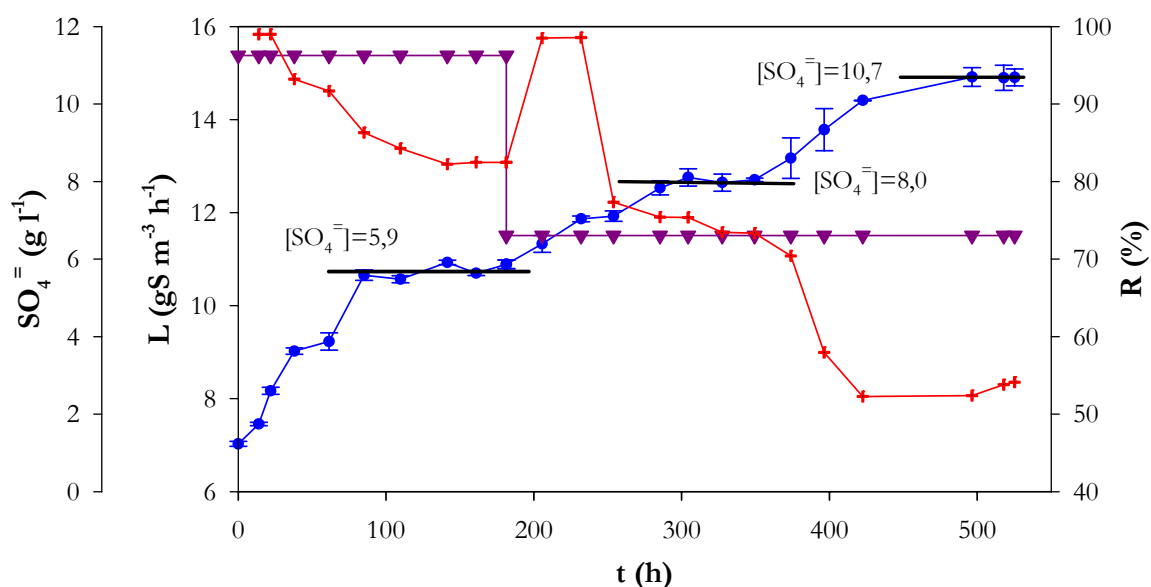


Fig 44. Adaptación de la biopelícula. Concentración de sulfato (●); carga de alimentación (▼) y porcentaje de eliminación (+)

Como se puede ver la capacidad de eliminación del biofiltro esta íntimamente relacionada con la concentración de sulfato, ya que para un valor constante de la carga de alimentación se produce un aumento de la concentración de sulfato hasta un valor que permanece invariable.

En el gráfico de la Figura 44 se pueden apreciar 3 valores constantes de la concentración de sulfato de 5,9; 8,0 y 10,7 $g\ l^{-1}$. Se observa que cuando la concentración de sulfato es constante, la eliminación de ácido sulfhídrico no cesa, en estos casos se produce la oxidación total hasta azufre elemental, como producto intermedio de la oxidación (Buisman *et al.*, 1990). Transcurrido cierto tiempo, la cepa se adapta a la concentración de sulfato del medio y comienza a oxidar nuevamente el H_2S hasta sulfato. Conviene resaltar que a pesar de que la cepa logre oxidar el H_2S a sulfato, incluso a altas concentraciones, se produce una disminución del porcentaje de eliminación del biofiltro; por ello conviene controlar la concentración de sulfato, reponiendo el medio de recirculación cuando ésta sea muy alta.

En cuanto a la concentración de biomasa en suspensión, se alcanzaron concentraciones de $2,6 \cdot 10^9$ células por mililitro a las 180 horas; y a partir de este momento, la cantidad de

biomasa en suspensión baja en dos ocasiones hasta los $2,1 \cdot 10^9$ y $1,5 \cdot 10^9$ células por mililitro a las 305 y 423 horas, respectivamente (Figura 45).

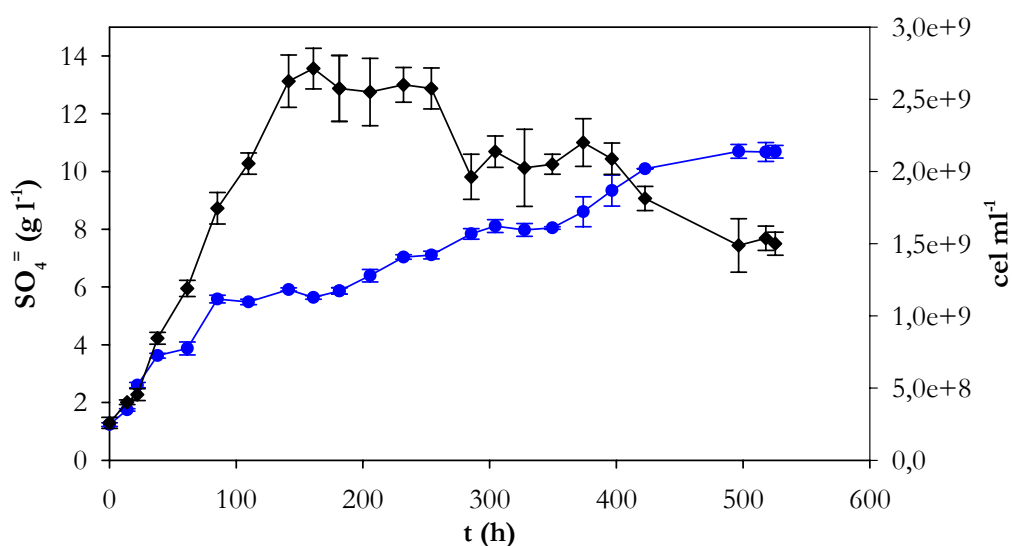


Fig 45. Evolución de la biomasa libre (♦) y de la concentración de sulfato (●) frente al tiempo en la fase de adaptación de la biopelícula

Estas tres mesetas donde la biomasa se mantiene constante coinciden con las mesetas de la concentración de sulfato. Este hecho nos sugiere la siguiente explicación para la inmovilización bacteriana: Inicialmente, las bacterias crecen en el medio en suspensión y progresivamente se van adsorbiendo sobre el soporte. Cuando la concentración de sulfato aumenta se inhibe el crecimiento en suspensión, estableciéndose un equilibrio entre las bacterias que se adhieren y las que se desprenden, fenómeno éste que provoca una estabilización de la concentración de biomasa en el medio de recirculación. Una vez que las bacterias se adaptan a la nueva concentración de sulfato, fundamentalmente las adheridas al soporte por el efecto protector que tiene la biopelícula, comienza otra fase de producción de sulfato que termina volviendo a inhibir el crecimiento bacteriano en suspensión. Este fenómeno provoca las sucesivas disminuciones de la biomasa libre en suspensión.

Tras 525 horas se substituyó el medio por medio fresco y se comienza el estudio del efecto de las principales variables de operación.

4.1.3. Estudio del efecto de las principales variables de operación sobre la eficacia del proceso en la degradación de H_2S . Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación

4.1.3.1. Estudio del efecto del caudal de recirculación de nutrientes

Se estudiaron tres caudales de recirculación de nutrientes de 308, 182 y 64 ml min^{-1} , que se corresponden a velocidades superficiales del líquido de 5,94; 3,50 y 1,24 m h^{-1} , respectivamente. El tiempo de residencia del gas fue de 30 segundos, la carga de alimentación fue de 11,50 $\text{gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y el pH entre 6,5 y 6,6.

Se realizaron medidas de la concentración de H_2S a lo largo del lecho del biofiltro. El biofiltro dispone a lo largo del lecho de 5 puntos de toma de muestras gaseosas a alturas de 0,060; 0,130; 0,205; 0,275 y 0,354 m.

En la Figura 46 se ha representado el porcentaje de eliminación con respecto a la altura del lecho para cada velocidad superficial del líquido y en la Figura 47 los porcentajes de eliminación alcanzados a la salida del biofiltro para cada velocidad superficial.

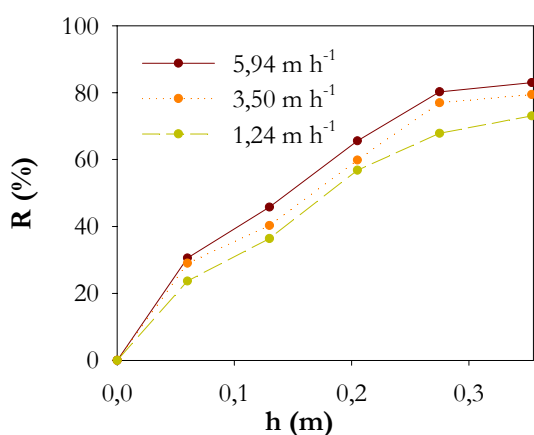


Fig 46. Porcentaje de eliminación frente a la altura a distintos caudales de recirculación. Eliminación H_2S

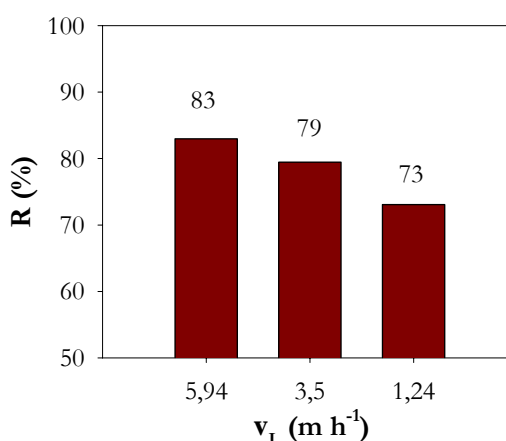


Fig 47. Porcentaje de eliminación frente a la velocidad superficial del líquido. Eliminación de H_2S

En las Figuras puede apreciarse el efecto del caudal de recirculación sobre el proceso de eliminación. Al pasar de una velocidad superficial del líquido de 5,94 a 1,24 m h^{-1} , se produce

una disminución del porcentaje de eliminación del 10%. Esta disminución se reduce al 4 % al pasar de 5,94 a 3,50 m h⁻¹. Por tanto, no cabe esperar un aumento mucho mayor de la eliminación a mayores caudales.

Gabriel and Deshusses (2003) trabajaron con un biofiltro de escurrimiento para eliminar H₂S, empleando como soporte espuma de poliuretano y una velocidad superficial de medio de recirculación de 1,7 m h⁻¹. En estudios posteriores, ensayaron velocidades superficiales del medio de recirculación hasta 7,99 m h⁻¹, utilizando como soporte mezcla de cubos de espuma de poliuretano y otro soporte comercial denominado TriPack (Gabriel *et al.*, 2004).

En la bibliografía no aparecen estudios relativos al efecto del caudal en biofiltros de escurrimiento con espuma de poliuretano, aunque sí con otros soportes. En este sentido, Jin *et al.* (2005a) estudiaron el efecto del caudal de recirculación en un BTF relleno de anillos de propileno en un rango de 0,627 a 2,746 m h⁻¹, siendo mayores los porcentajes de eliminación para los caudales pequeños. En nuestro caso, la superficie específica de la espuma de poliuretano es del orden de dos veces la de los anillos de propileno, 600 y 350 m² m⁻³ respectivamente. Es evidente que con esta superficie específica y los caudales de recirculación ensayados, la formación de la película de líquido no juega un papel tan importante y es de suponer que, en nuestro caso el aumento de caudal mejora el contacto de las fases involucradas, facilitando el acceso de nutrientes al microorganismo.

A caudales muy altos del medio de recirculación podría disminuir el porcentaje de eliminación por un aumento de capa líquida, que llegado al límite máximo podría incluso inundar la columna.

4.1.3.2. Estudio del efecto inhibitorio de la concentración de sulfato

El efecto inhibitorio de la concentración de sulfato ha sido ya comprobado en la fase de aclimatación y adaptación de la biopelícula, sin embargo, se estimó oportuno realizar un estudio más profundo de este efecto, para poder llegar a establecer cuál es la concentración de sulfato que no se debe superar en el medio de recirculación en ningún momento, y evitar así, una drástica disminución del porcentaje de eliminación del biofiltro.

Se realizó un experimento trabajando con un tiempo de residencia del gas de 30 segundos, un caudal de recirculación de nutrientes de 308 ml min^{-1} , una carga de alimentación de $11,5 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y un pH entre 6,5 y 6,6.

Se realizaron medidas de la concentración de H_2S a distintas alturas de la columna, a medida que iba aumentando la concentración de sulfato desde 3,0 hasta $10,7 \text{ g l}^{-1}$ (Figura 48).

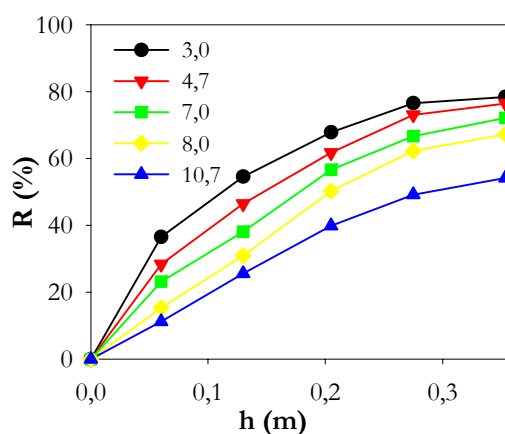


Fig 48. Efecto de la concentración de sulfato frente a la altura en la eliminación de H_2S

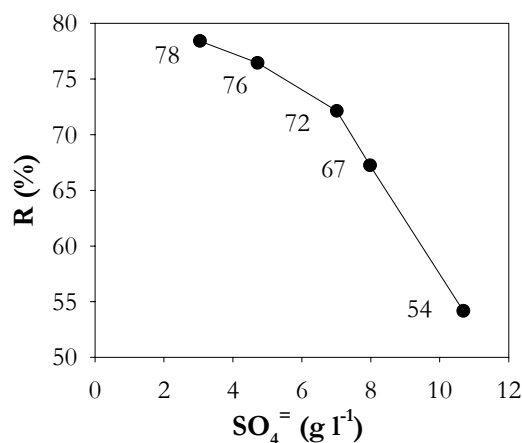


Fig 49. Porcentaje de eliminación a la salida frente a la concentración de sulfato en la eliminación de H_2S

Para cada altura de lecho ensayada, se observó que el porcentaje de eliminación es mucho menor conforme aumenta la concentración de sulfato, disminuyendo a la salida del 78 al 54 % para concentraciones de sulfato de 3,0 hasta 10,7, respectivamente. (Figura 49).

A partir de 5 g l^{-1} se produce una drástica disminución en la eliminación; es por ello, que se recomienda mantener la concentración de sulfato siempre por debajo de los 5 g l^{-1} . Esta recomendación es tarea fácil a valores de carga bajos, dado que la velocidad de generación de sulfato será lenta, pero es algo difícil cuando se trabaja a valores de carga superiores ya que la velocidad de generación de sulfato será muy alta.

Para controlar la concentración de sulfato se repuso el 100% del medio de recirculación. Esta técnica ha sido empleada por diversos autores. Así, en los trabajos de investigación realizados con biofiltros de escurrimiento y con distintos microorganismos a distintos pH

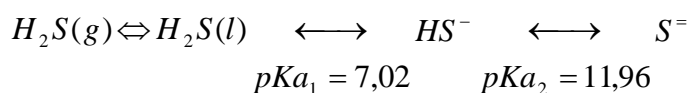
para la eliminación de H_2S , se puede observar que Tanji *et al.* (1989) realizaron reposiciones cuando la concentración de sulfato del medio de recirculación superaba los 5 g l^{-1} ; Koe and Yang (2000) mantuvieron, realizando reposiciones de medio fresco, una concentración de sulfato entre 2 y 5 g l^{-1} ; Jin *et al.* (2005a) trabajando a pH bajos, evitaron concentraciones mayores de $1,9\text{ g l}^{-1}$ y Ruokojärvi *et al.* (2001) y Sercu *et al.* (2005b), establecieron un límite más alto de 15 g l^{-1} .

El hecho de utilizar como soporte la espuma de poliuretano representa también una ventaja con respecto al efecto inhibitorio del sulfato, ya que al tener una alta porosidad se facilita el lavado de sulfato generado, evitando así su acumulación. Shinabe *et al.* (2000) realizaron un estudio con varios soportes cerámicos encontrando que los soportes macroporosos (1 mm), a pesar de tener una menor superficie específica, daban mayores capacidades de eliminación que otros microporosos de mayor superficie, y la explicación se encuentra en que éstos últimos dificultaban el lavado del sulfato generado.

4.1.3.3. Estudio del efecto del pH

El pH del medio de recirculación tiene una gran influencia en el proceso de oxidación del H_2S , no sólo porque afecta a la concentración de H_2S en el medio líquido, sino porque al tratarse de una degradación biológica, cada microorganismo tiene un óptimo de pH al cual se da la máxima velocidad de consumo de sustrato y por tanto de degradación.

Para la especie *Thiobacillus thioparus*, el pH óptimo de crecimiento en cultivo sumergido se sitúa entorno a 6,6-7,2, pero en el caso de las biopelículas, hay que tener en cuenta que el microorganismo puede estar expuesto a un pH ligeramente distinto al que se mide en el medio líquido. Además, como se ha comentado anteriormente, al pasar el H_2S de la fase gas a la fase líquida, en función del pH, el ácido sulfhídrico se encontrará como H_2S , HS^- o $S^{=}$, y los valores de las constantes son 7,02 para el pK_{a1} y 11,96 para el pK_{a2} :



Por tanto, si estamos con un pH por debajo de 7,02 la especie mayoritaria será el H_2S , entre 7,02 y 11,96 será el HS^- y, por encima de 11,96, se encontrará mayoritariamente el $S^{=}$.

Para estudiar el efecto del pH, se fue aumentando el valor de éste en el medio de recirculación desde 6,0 hasta 8,2. El tiempo de residencia del gas fue de 30 segundos y la carga de alimentación de $11,5 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$, manteniendo la concentración de sulfato por debajo de los 5 g l^{-1} . En la Figura 50, se representa el porcentaje de eliminación para cada valor de pH del medio de recirculación en función de la altura del lecho. Como se puede apreciar la eliminación aumenta considerablemente al incrementarse el pH, incluso por encima del óptimo de crecimiento de la bacteria en cultivo sumergido.

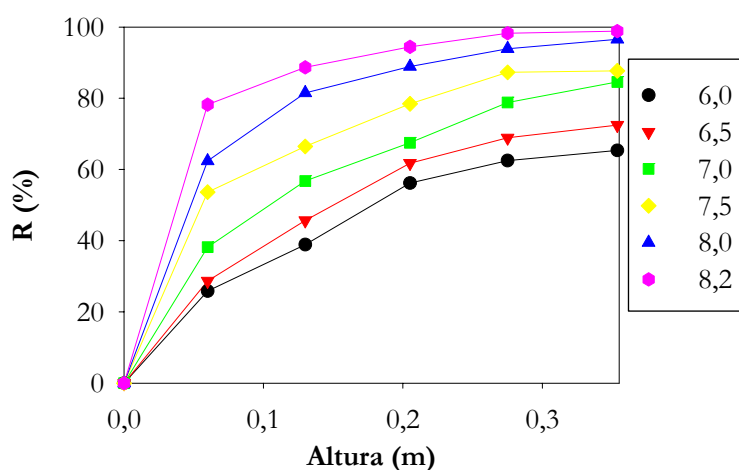


Fig 50. Porcentaje de eliminación frente a la altura a distintos pH en la eliminación de H₂S

Al eliminar el H₂S de la corriente gaseosa, la eliminación se puede producir bien por absorción y/o reacción química, o por oxidación biológica por el microorganismo. Para diferenciar entre ambas eliminaciones se ha definido el término de “porcentaje de eliminación biológica (R_b)”, cuyo valor se obtiene mediante un balance de materia al sistema (ver anexo 6.1.5). De esta forma, cuando la concentración del compuesto aumenta en el medio de recirculación, el porcentaje de eliminación biológica será menor que el porcentaje de eliminación que se calcula considerando las concentraciones de entrada y salida del biofiltro. Y cuando la concentración del compuesto disminuye en el medio de recirculación, el porcentaje de eliminación biológica será mayor que el porcentaje de eliminación, pudiendo incluso ser mayor del 100% en algunos casos.

Si se representa el porcentaje de eliminación y el porcentaje de eliminación biológica con respecto al pH obtenemos el siguiente gráfico (Figura 51):

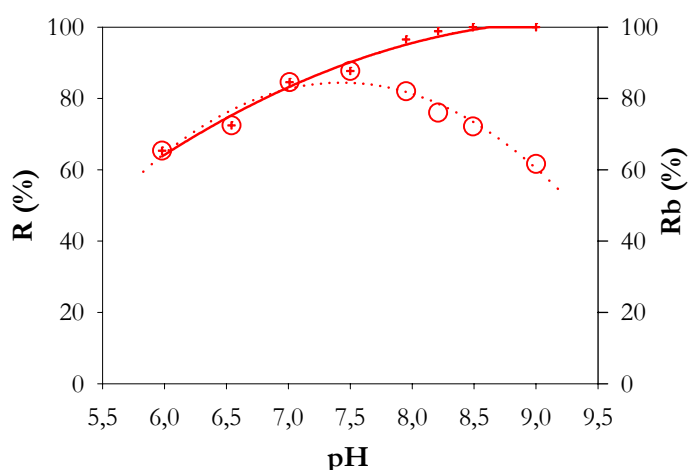


Fig 51. Porcentajes de eliminación R (+) y eliminación biológica (○) frente pH en la eliminación de H_2S

En esta Figura con cruces rojas (+) están representados los valores del porcentaje de eliminación considerando la concentración de entrada y salida de H_2S . Los dos últimos experimentos a pH de 8,5 y 9,0 fueron realizados a posteriori. Si se quiere conocer la contribución exclusiva de la eliminación biológica, hay que tener en cuenta que el H_2S no se esté acumulando en medio líquido de recirculación, puesto que no se trataría de una eliminación biológica sino de una eliminación por absorción. Esto es precisamente lo que ocurre para pH por encima 8,0, dado los valores de los pKa, para pH por encima de 7,02 esta favorecida la especie HS^- en disolución. El ácido sulfhídrico se absorbe en el medio líquido produciéndose su acumulación en el medio, pero no se degrada biológicamente.

Para el pH de 9,0 la eliminación aparente es del 100%, pero realmente el microorganismo está degradando solo el 61,6%, quedando el porcentaje restante absorbido en el medio líquido. Se ha representado en azul la eliminación por degradación biológica (Rb), siendo el óptimo de degradación para valores de pH entre 7,0 y 7,5.

4.1.3.4. Determinación de la capacidad de eliminación máxima de degradación biológica

Es muy importante conocer cuál es el valor máximo de la capacidad de eliminación (EC_{max}) de nuestro sistema para llegar a determinar el valor límite de eliminación. Para realizar esta experiencia y saber cuánto es capaz de eliminar nuestro sistema, se empleó un tiempo de residencia del gas de 150 segundos, valor muy por encima del rango normal de trabajo. Los tiempos de residencia están normalmente en torno a 30 segundos, aunque hay trabajos realizados a tiempos de residencia muy bajos (1,6 segundos utilizado por (Gabriel and Deshusses 2003)). Se seleccionó el valor de 150 segundos para intentar minimizar los fenómenos de limitación de transferencia de masa del contaminante de la fase gas a la líquida y de la fase líquida a la biopelícula (microorganismo).

La concentración de sulfato se mantuvo por debajo de 5 g l^{-1} , ya que como se ha demostrado en apartados anteriores, por encima de este valor los fenómenos inhibitorios por la acumulación del producto de oxidación son considerables. El caudal de recirculación fue de 308 ml min^{-1} y el pH se mantuvo dentro del rango óptimo de trabajo entre 7,1 y 7,2.

Con objeto de disponer de datos suficientes para el modelado cinético, se realizaron medidas de la concentración de ácido sulfhídrico a lo largo de la columna en 5 puntos de toma de muestras, a alturas de 0,060; 0,130; 0,205; 0,275 y 0,354 metros.

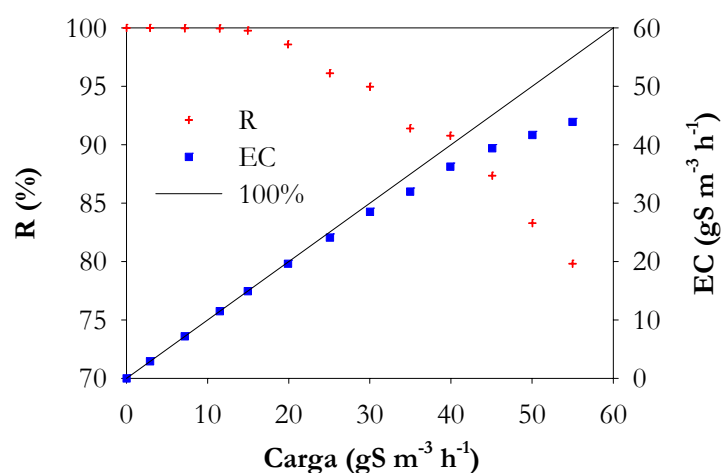
La concentración de entrada se fue incrementando desde 93,7 ppmv hasta 1778,8 ppmv, que se corresponden a valores de cargas de alimentación desde $2,89 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ hasta $54,98 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$. Considerando la altura total del biofiltro, si se realizan los cálculos de los porcentajes de eliminación y de las capacidades de eliminación a la salida del biofiltro, se obtiene que para valores de carga de hasta $14,9 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (484 ppmv) tenemos un porcentaje de eliminación por encima del 99,8%, a partir de esta carga el porcentaje de eliminación empieza a disminuir, obteniéndose valores del porcentaje de eliminación mayores del 95% para cargas por debajo de $30 \text{ gS m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (971 ppmv H_2S). La capacidad máxima de eliminación alcanzada fue de $43,9 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ para la carga de alimentación de $54,98 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (79,8% de eliminación).

En la Tabla 10, se han representado los valores de las concentraciones medidas a las distintas alturas del biofiltro.

Altura (m)	0	0,060	0,130	0,205	0,275	0,354
	C_0	C_1	C_2	C_3	C_4	$C_5=C_S$
Concentración H_2S (ppmv)	93,7	6,5	2,0	0,5	0,3	0
	232,9	21,8	6,5	0,5	0,2	0,1
	372,2	44,6	19,7	7,2	0,6	0,2
	483,6	65,3	29,4	7,7	4,3	1,2
	643,8	119,4	55,8	14,2	12,1	9,2
	810,9	156,5	71,7	32,4	31,9	31,5
	971,1	209,9	126,1	47,9	46,1	48,9
	1131,2	252,8	144,5	101,4	99,3	97,3
	1291,4	294,7	172,1	124,1	121,1	119,3
	1458,5	336,8	246,5	188,8	186,7	184,6
	1618,7	391,3	328,4	272,8	271,7	270,7
	1778,8	557,8	444,8	371,9	359,7	359,0

Tabla 10. Concentraciones de H_2S a las distintas alturas. EBRT 150 s

En la Figura 52 están representados los valores del porcentaje de eliminación y de la capacidad de eliminación a la salida del biofiltro, frente a la carga de entrada (la línea recta representaría el 100% de eliminación).

Fig 52. Capacidad de eliminación (■) y porcentaje de eliminación (+) frente carga a la salida del biofiltro en la eliminación de H_2S . EBRT 150 s

Si suponemos una cinética de consumo de sustrato tipo Monod, al realizar un balance de materia a un elemento diferencial de volumen, se puede obtener la siguiente ecuación⁴:

$$EC = \frac{V_{\max} C_{\ln}}{K_m + C_{\ln}}$$

Por tanto, si se calculan los valores de la concentración media logarítmica y de la capacidad de eliminación se pueden obtener los valores de las constantes cinéticas V_{\max} y K_m , mediante linealización de la ecuación anterior.

En la Tabla 11 se muestran los valores experimentales de las concentraciones de ácido sulfhídrico de entrada y salida (C_0 y C_s), de la carga de alimentación (L), de la capacidad de eliminación (EC) y la concentración media logarítmica (C_{\ln}), así como los valores calculados por el modelo para la concentración de salida (C_s), concentración media logarítmica (C_{\ln}), porcentaje de eliminación (R) y capacidad de eliminación (EC).

EXPERIMENTAL						MODELO			
C_0	C_s	L	R	EC	C_{\ln}	C_s	C_{\ln}	R	EC
ppmv (H ₂ S)		gSm ⁻³ h ⁻¹	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)		%	gSm ⁻³ h ⁻¹
93,7	0,0	2,89	100,0	2,9	-	0,2	14,7	99,8	2,9
232,9	0,1	7,20	100,0	7,2	30,2	0,6	39,2	99,7	7,2
372,2	0,2	11,50	99,9	11,5	49,9	1,5	67,6	99,6	11,5
483,6	1,2	14,95	99,8	14,9	79,9	2,9	93,7	99,4	14,9
643,8	9,2	19,90	98,6	19,6	149,3	6,3	137,7	99,0	19,7
810,9	31,5	25,07	96,1	24,1	240,0	13,2	193,7	98,4	24,7
971,1	48,9	30,02	95,0	28,5	308,5	25,3	259,4	97,4	29,2
1131,2	97,3	34,97	91,4	32,0	421,5	46,1	339,0	95,9	33,5
1291,4	119,3	39,92	90,8	36,2	492,1	78,9	433,8	93,9	37,5
1458,5	184,6	45,08	87,3	39,4	616,4	129,4	548,7	91,1	41,1
1618,7	270,7	50,03	83,3	41,7	753,7	194,5	672,1	88,0	44,0
1778,8	359,0	54,98	79,8	43,9	887,2	275,4	805,9	84,5	46,5

Tabla 11. Valores experimentales y calculados por el modelo a la salida del BTF. EBRT 150 s

Con los datos experimentales, se realizó el ajuste y se obtuvieron los siguientes valores de las constantes cinéticas (Tabla 12):

⁴ Ver Anexo 6.2 Modelado cinético

V_{\max}	K_m	r^2
56,7	295,7	0,984
$\text{g S m}^{-3}\text{h}^{-1}$	ppmv	

Tabla 12. Constantes cinéticas. EBRT 150 s

El valor de la capacidad de eliminación máxima según el modelo sería de $56,7 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$, aunque experimentalmente el valor máximo alcanzado fue de $43,9 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$.

Conocido los valores de V_{\max} y K_m , podemos obtener el valor de la concentración de salida para cualquier concentración de entrada. El procedimiento de cálculo es un proceso iterativo, ya que en la ecuación el valor de la concentración es la media logarítmica y se necesita el valor de la concentración de salida. El procedimiento iterativo ha sido el descrito en la Figura 53.

Datos de entrada:

EBRT (s)
 K_m (ppmv)
 V_{\max} ($\text{gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$)
 Cota (ppmv)
 Co: (ppmv)

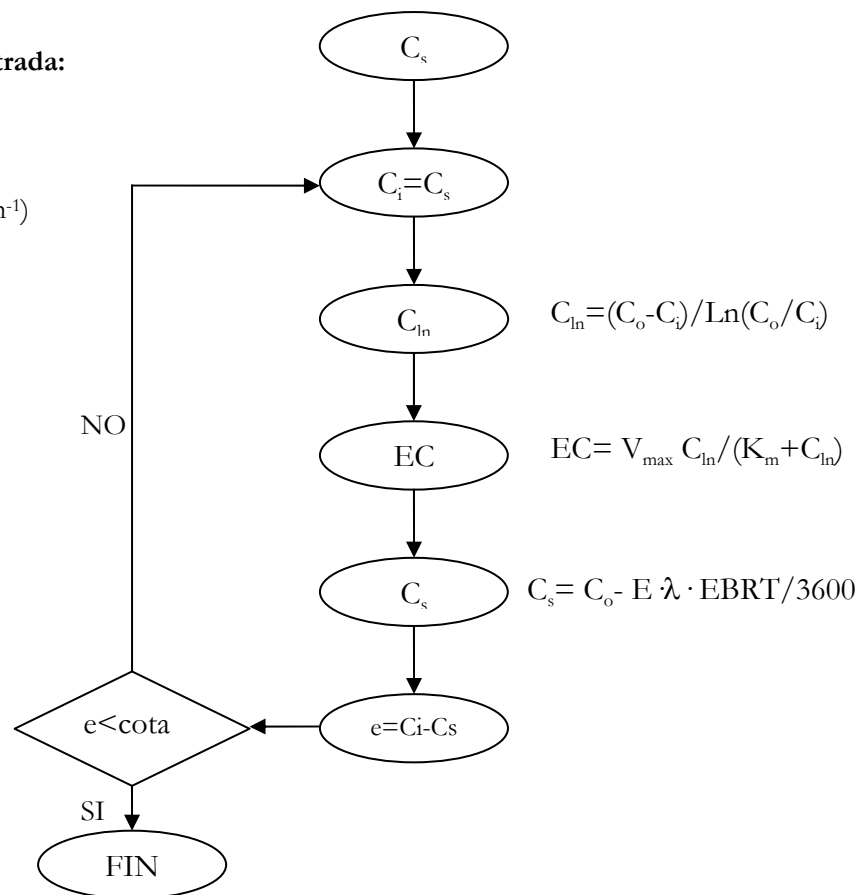


Fig 53. Procedimiento iterativo de cálculo

En la Figura 54, se han representado los valores experimentales frente a los calculados por el modelo.

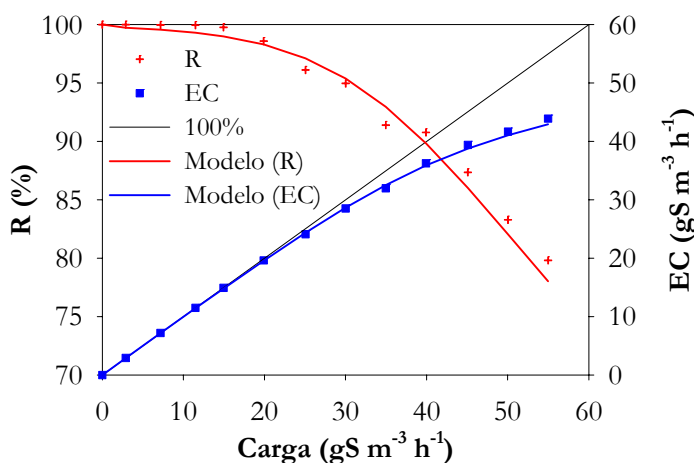


Fig 54. Ajuste del modelo. Capacidad de eliminación (■) y porcentaje de eliminación (+) frente a carga. Eliminación H₂S con EBRT de 150 s

Como se puede observar el grado de ajuste del modelo es bastante bueno, por lo que puede predecirse cuál va a ser la concentración de salida. El modelo resulta menos apropiado cuando trata de predecir como varía la concentración a lo largo de la altura del biofiltro, ya que los valores de las constantes V_{\max} y K_m son válidos sólo para la altura total del biofiltro. En realidad son constantes cinéticas aparentes, fuertemente influenciadas por las variables hidrodinámicas de la columna. Si se realiza un estudio semejante con las concentraciones a las distintas alturas de la columna, se obtienen los siguientes valores (Tablas 13, 14, 15 y 16):

EXPERIMENTAL						MODELO			
C₀	C₄	L	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)		gSm ⁻³ h ⁻¹	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	
93,7	0,3	3,72	99,7	3,7	16,5	0,2	15,6	99,75	3,71
232,9	0,2	9,26	99,9	9,3	33,2	0,9	41,4	99,63	9,22
372,2	0,6	14,80	99,8	14,8	58,5	2,0	71,1	99,45	14,72
483,6	4,3	19,22	99,1	19,1	101,5	3,6	98,0	99,25	19,08
643,8	12,1	25,59	98,1	25,1	159,0	7,5	142,9	98,84	25,29
810,9	31,9	32,24	96,1	31,0	240,8	14,8	198,9	98,17	31,65
971,1	46,1	38,61	95,3	36,8	303,4	27,0	263,5	97,22	37,53
1131,2	99,3	44,97	91,2	41,0	424,2	46,8	340,4	95,86	43,11
1291,4	121,1	51,34	90,6	46,5	494,4	77,1	430,9	94,03	48,27
1458,5	186,7	57,98	87,2	50,6	618,7	122,8	539,8	91,58	53,10
1618,7	271,7	64,35	83,2	53,5	754,8	181,6	656,9	88,78	57,13
1778,8	359,7	70,72	79,8	56,4	887,8	255,1	784,6	85,66	60,58

Tabla 13. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,275 m; EBRT=150 s

EXPERIMENTAL						MODELO			
C₀	C₃	L	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)		gSm ⁻³ h ⁻¹	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	
93,7	0,5	4,99	99,5	5,0	17,7	0,4	17,2	99,55	4,97
232,9	0,5	12,42	99,8	12,4	38,1	1,5	46,1	99,34	12,34
372,2	7,2	19,85	98,1	19,5	92,6	3,7	79,8	99,01	19,65
483,6	7,7	25,79	98,4	25,4	114,8	6,5	110,8	98,65	25,44
643,8	14,2	34,33	97,8	33,6	165,1	13,5	163,0	97,91	33,61
810,9	32,4	43,24	96,0	41,5	241,9	26,5	229,2	96,74	41,83
971,1	47,9	51,79	95,1	49,2	306,8	47,3	305,7	95,13	49,26
1131,2	101,4	60,33	91,0	54,9	427,0	79,6	396,3	92,96	56,08
1291,4	124,1	68,87	90,4	62,2	498,3	126,1	500,9	90,24	62,14
1458,5	188,8	77,78	87,1	67,7	621,1	191,1	623,6	86,90	67,59
1618,7	272,8	86,32	83,1	71,8	755,8	268,8	751,9	83,39	71,99
1778,8	371,9	94,86	79,1	75,0	898,9	360,1	888,2	79,75	75,66

Tabla 14. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,205 m; EBRT=150 s

EXPERIMENTAL						MODELO			
C ₀	C ₂	L	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)	gSm ⁻³ h ⁻¹	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	Ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹		
93,7	2,0	7,88	97,9	7,7	23,7	2,0	23,8	97,87	7,71
232,9	6,5	19,59	97,2	19,0	63,3	6,7	63,8	97,11	19,02
372,2	19,7	31,30	94,7	29,6	119,9	14,5	110,1	96,12	30,08
483,6	29,4	40,67	93,9	38,2	162,1	23,6	152,4	95,11	38,68
643,8	55,8	54,14	91,3	49,4	240,5	43,2	222,3	93,29	50,50
810,9	71,7	68,19	91,2	62,2	304,7	74,0	307,8	90,87	61,97
971,1	126,1	81,66	87,0	71,1	414,0	115,8	402,2	88,08	71,93
1131,2	144,5	95,13	87,2	83,0	479,5	170,9	508,1	84,89	80,76
1291,4	172,1	108,60	86,7	94,1	555,4	239,7	624,5	81,44	88,44
1458,5	246,5	122,65	83,1	101,9	681,8	325,3	755,3	77,69	95,30
1618,7	328,4	136,12	79,7	108,5	808,9	419,2	887,9	74,10	100,87
1778,8	444,8	149,59	75,0	112,2	962,5	523,1	1026,0	70,59	105,60

Tabla 15. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,130 m; EBRT=150 s

EXPERIMENTAL						MODELO			
C ₀	C ₁	L	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)	gSm ⁻³ h ⁻¹	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	Ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹		
93,7	6,5	17,06	93,0	15,9	32,7	6,7	33,0	92,85	15,84
232,9	21,8	42,44	90,6	38,5	89,1	20,3	87,1	91,29	38,74
372,2	44,6	67,82	88,0	59,7	154,3	39,2	147,9	89,48	60,68
483,6	65,3	88,11	86,5	76,2	208,9	58,8	201,6	87,85	77,41
643,8	119,4	117,30	81,4	95,5	311,3	95,1	286,9	85,23	99,98
810,9	156,5	147,75	80,7	119,2	397,8	144,1	386,0	82,22	121,49
971,1	209,9	176,94	78,4	138,7	496,9	202,6	490,3	79,14	140,03
1131,2	252,8	206,12	77,7	160,1	586,2	272,1	602,9	75,95	156,54
1291,4	294,7	235,30	77,2	181,6	674,6	352,2	722,9	72,72	171,12
1458,5	336,8	265,75	76,9	204,4	765,3	446,3	854,7	69,40	184,44
1618,7	391,3	294,93	75,8	223,6	864,4	545,2	986,5	66,32	195,59
1778,8	557,8	324,11	68,6	222,5	1052,9	651,8	1122,6	63,36	205,35

Tabla 16. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,060 m; EBRT=150 s

De las Tablas anteriores, de forma análoga a como se hizo para el caso de la altura total del biofiltro, se pueden calcular los valores de K_m y V_{max} en función de la altura, siendo éstos los que se representan en la siguiente Tabla:

h	V_{max}	K_m	r²
0,354	56,7	295,7	0,984
0,275	87,9	353,3	0,994
0,205	105,3	347,5	0,991
0,130	151,3	443,5	0,992
0,060	321,7	636,2	0,998
m	g S m ⁻³ h ⁻¹	ppmv	

Tabla 17. Valores cinéticos en función de la altura de la columna. EBRT 150 s

Tal y como se comentó anteriormente, se observa una variación de las constantes V_{\max} y K_m a lo largo de la altura de lecho, por lo que se puede confirmar que ambos valores son realmente constantes aparentes. Según la ecuación de degradación biológica que se supuso en el modelo se tiene que:

$$(-r_b) = -\frac{V_{\max} C}{K_m + C}$$

Estos dos valores de V_{\max} y K_m son constantes intrínsecas del microorganismo, los valores más aproximados de estas constantes las podríamos obtener en un cultivo sumergido, donde la concentración de sustrato fuese homogénea; pero en el caso que nos ocupa, las concentraciones que estamos midiendo de H_2S no se corresponden con la concentración de H_2S disponible para el microorganismo en la biopelícula; por tanto los valores que se obtienen son constantes aparentes, estando su valor fuertemente influenciado por las condiciones hidrodinámicas de la columna.

Se puede observar que se produce una disminución de V_{\max} y K_m a medida que aumenta la altura del lecho. Esta disminución se justifica porque a medida que aumenta la altura del lecho descende el valor de la concentración media, y por tanto, el gradiente de concentración disminuye, que provoca un descenso en la transferencia de materia y los valores de las constantes aparentes.

En la Figura 55, se representan los valores experimentales de la capacidad de eliminación frente a la concentración media logarítmica experimental y la calculada por el modelo.

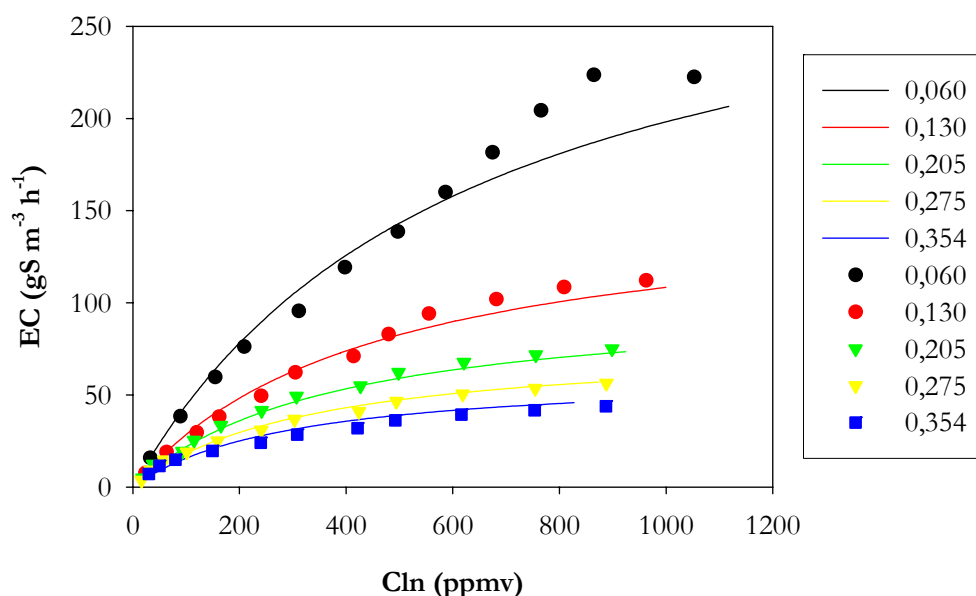


Fig 55. Capacidad de eliminación frente a concentración media logarítmica. Valores experimentales y predichos por el modelo (rectas) a distintas alturas. EBRT 150 s

Desde el punto de vista del diseño, es muy importante poder disponer de una relación empírica que permita calcular el valor de las constantes cinéticas a cualquier altura de columna. Para ello se realizaron distintos tipos de regresiones lineales, encontrándose un buen ajuste mediante un modelo de ajuste multiplicativo (Modelo potencial $y=a x^b$) (Figura 56).

El coeficiente de regresión lineal (r^2) para el ajuste fue de 0,986 y 0,975 para V_{\max} y K_m , respectivamente. Por tanto, es posible obtener los valores de V_{\max} y K_m en función de la altura utilizando las siguientes ecuaciones:

$$V_{\max} = 23,78 h^{-0,93} \text{ (gS m}^{-3} \text{ h}^{-1}\text{)}$$

$$K_m = 192,17 h^{-0,42} \text{ (ppmv)}$$

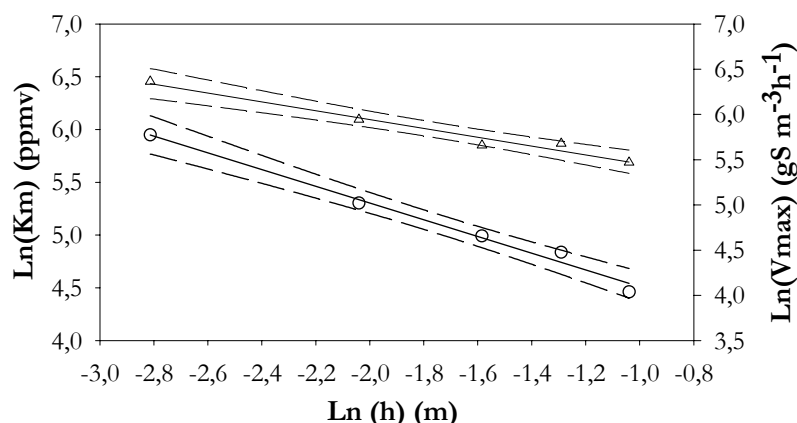


Fig 56. Predicción de los valores de las constantes cinéticas V_{\max} (○) y K_m (Δ) en función de la altura. EBRT 150 s

Así pues los valores de las constantes cinéticas en función de la altura del biofiltro son:

h	Vmax	Km
0,060	321,7	623,0
0,130	157,3	450,9
0,205	103,2	372,7
0,275	78,6	329,7
0,354	62,3	296,7
m	g S m ⁻³ h ⁻¹	ppmv

Tabla 18. Valores obtenidos de V_{\max} y K_m por la linealización de los parámetros

Si calculamos las constantes cinéticas mediante las ecuaciones anteriores en función de la altura del biofiltro, podemos obtener la concentración a cualquier altura de la columna y, por tanto, el porcentaje de eliminación. En la Figura 57, se han representado los valores de los porcentajes de eliminación experimentales y ajustados por el modelo.

El modelo supone una distribución de la biomasa y del soporte a lo largo del lecho es homogénea. En realidad, las concentraciones de biomasa son más altas en la parte inferior del biofiltro, ya que la concentración de sustrato es más alta y, por tanto, las velocidades de crecimiento del microorganismo son mayores que a la salida del biofiltro, donde ya se ha agotado el sustrato. Con respecto a la distribución del soporte, teníamos una altura de 0,354 m

relleno de cubos de espuma de 1 cm. de lado; a lo largo de la operación de biofiltro fue imposible evitar la compactación por el peso del soporte, ya que el soporte tiene una capacidad de absorción de agua muy alta que hace que aumente su peso específico y, por tanto, se produzca una compactación por peso de las espumas; este fenómeno se podría haber minimizado estratificando en platos el biofiltro.

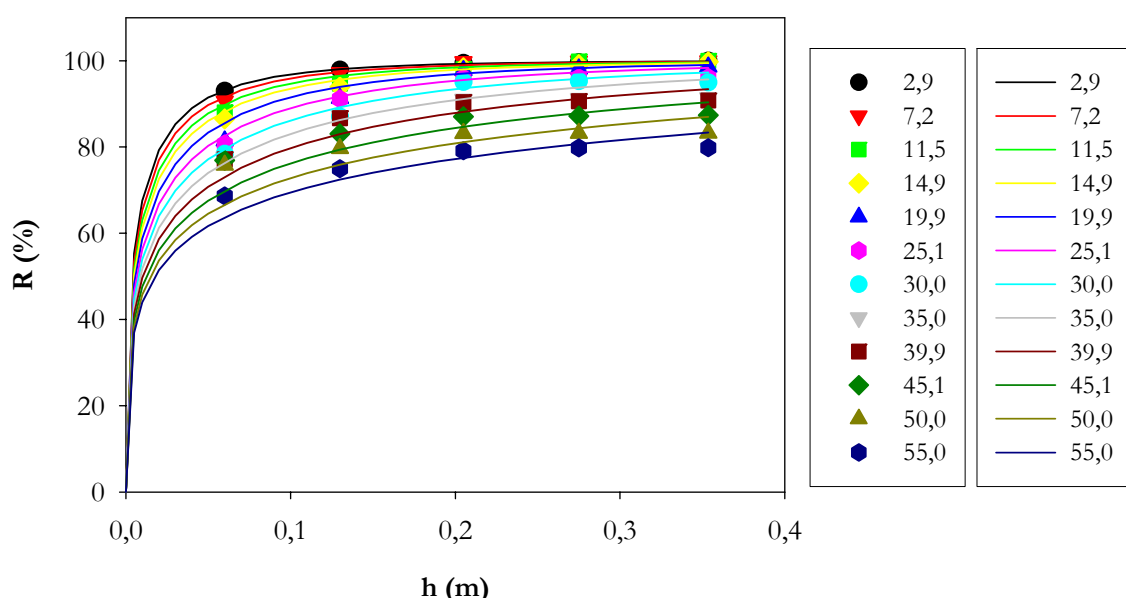


Fig 57. Porcentajes de eliminación. Valores experimentales frente a predichos por el modelo. EBRT 150 s

Por tanto la conjunción de estos dos fenómenos de compactación y mayor cantidad de biomasa en la parte inferior puede ser la responsable de tener unos valores muy altos de eliminación y por tanto de V_{\max} en la primera altura de toma de muestra, y que la dependencia de los valores de las constantes cinéticas disminuyan de forma potencial al aumentar la altura.

4.1.3.5. Estudio del efecto del tiempo de residencia

Una vez estudiado en el apartado anterior los valores máximos de eliminación para cada carga de alimentación, es importante conocer como afecta el tiempo de residencia del gas.

Para estudiar el efecto del tiempo de residencia se seleccionaron dos valores de carga de alimentación de 2,89 y 11,50 gS m⁻³ h⁻¹, para cada valor de carga de alimentación se fue disminuyendo simultáneamente el tiempo de residencia del gas y la concentración de entrada, de forma que la carga fuese constante. Otra posibilidad de diseño experimental hubiese sido fijar una concentración de entrada constante e ir disminuyendo el tiempo de residencia, de forma que la carga fuese aumentando. Desde el punto de vista del diseño, a escalas mayores la primera opción es más interesante, dado que permite calcular la cantidad del compuesto de interés a eliminar por volumen empaquetado del biofiltro y por unidad de tiempo que estamos alimentando al sistema. Es posible, a modo de ejemplo, tener dos gases a tratar con concentraciones de 23 y 372 ppmv de H₂S y lograr alimentar a un biofiltro la misma carga de 11,5 gS m⁻³h⁻¹, variando el tiempo de residencia del gas de 11 segundos para el primero a 150 segundos para el segundo.

Se emplearon tiempos de residencia de 150, 120, 90, 60, 30, 20 y 11 segundos. El caudal de recirculación fue de 308 ml min⁻¹ y el pH se mantuvo dentro del óptimo de trabajo entre 7,1 y 7,2. Para poder hacer un modelado cinético, se realizaron medidas de la concentración de ácido sulfhídrico a lo largo de la columna en los 5 puntos de toma de muestras, a alturas de 0,060; 0,130; 0,205; 0,275 y 0,354 metros.

Con estos valores de carga de alimentación y en el rango de tiempo de residencia se tratan concentraciones de H₂S de entrada desde 6,9 hasta 93,7 ppmv para la carga de 2,89 gS m⁻³h⁻¹ y desde 27,3 hasta 372,2 ppmv para la carga de 11,50 gS m⁻³h⁻¹, rango lo suficientemente amplio que abarca el rango de concentraciones estudiado por la mayoría de los investigadores.

En las Tablas 19 y 20, se han representado los valores de las concentraciones medidos a las distintas alturas del biofiltro para las cargas de 2,89 y 11,50 gS m⁻³h⁻¹ respectivamente.

Si se representa la capacidad de eliminación frente a la concentración media logarítmica a las distintas alturas de la columna (Figura 58), se obtienen curvas que se ajustan a la ecuación del modelo suponiendo una cinética tipo Monod, obteniendo para cada altura un valor de V_{max} y de la constante de saturación K_m.

Altura (m)	0	0,060	0,130	0,205	0,275	0,354	
	C₀	C₁	C₂	C₃	C₄	C₅=C_S	EBRT (s)
Concentración H ₂ S (ppmv)	93,7	9,6	1,7	0,3	0,2	0,08	150
	74,9	11,4	3,5	0,5	0,3	0,14	120
	56,2	11,3	4,8	0,8	0,5	0,38	90
	37,5	12,2	6,6	2,7	0,9	0,77	60
	18,7	12,2	7,7	3,5	1,7	1,45	30
	12,5	9,1	6,1	4,0	2,3	1,75	20
	6,9	5,7	4,4	3,7	3,2	2,09	11

Tabla 19. Concentraciones de H₂S a las distintas alturas. Carga 2,89 gSm⁻³h⁻¹

Altura (m)	0	0,060	0,130	0,205	0,275	0,354	
	C₀	C₁	C₂	C₃	C₄	C₅=C_S	EBRT (s)
Concentración H ₂ S (ppmv)	372,2	84,6	19,7	7,2	0,6	0,2	150
	297,8	82,5	25,4	5,9	3,5	0,5	120
	223,3	77,6	35,5	10,7	5,3	1,9	90
	148,9	74,9	35,8	19,9	10,3	7,8	60
	74,4	46,0	35,2	23,5	15,9	12,9	30
	49,6	34,8	28,3	22,4	17,9	14,4	20
	27,3	22,5	19,7	17,1	14,8	13,6	11

Tabla 20. Concentraciones de H₂S a las distintas alturas. Carga 11,50 gSm⁻³h⁻¹

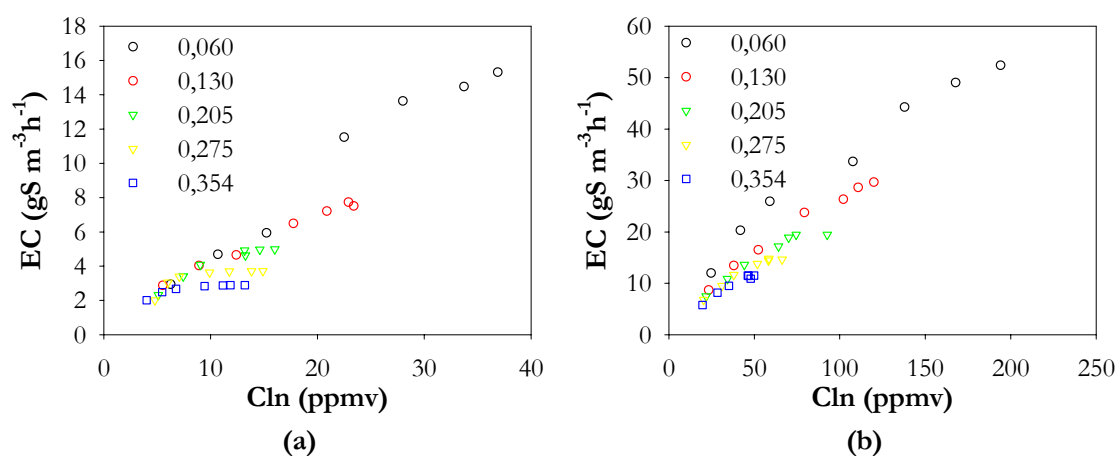


Fig 58. Capacidad de eliminación frente concentración media logarítmica. (a) Carga 2,89 gS m⁻³h⁻¹; (b) Carga 11,50 gS m⁻³h⁻¹

En las siguientes Tablas (21, 22, 23, 24 y 25) se exponen los valores experimentales y lo calculados por el modelo a las distintas alturas del biofiltro para la carga de $2,89 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$.

EXPERIMENTAL						MODELO			
C_0	C_s	EBRT	R	EC	Cln	C_s	Cln	R	EC
ppmv (H_2S)	s	%	$\text{gSm}^{-3}\text{h}^{-1}$	ppmv	ppmv (H_2S)	%	$\text{gSm}^{-3}\text{h}^{-1}$	ppmv	ppmv (H_2S)
93,7	0,08	150	99,9	2,89	11,8	0,03	11,8	99,96	2,89
74,9	0,14	120	99,8	2,89	11,7	0,13	11,7	99,8	2,89
56,2	0,38	90	99,3	2,87	11,3	0,41	11,3	99,3	2,87
37,5	0,77	60	97,9	2,82	10,1	1,03	10,1	97,3	2,82
18,7	1,45	30	92,3	2,62	7,2	1,81	7,2	90,4	2,62
12,5	1,75	20	86	2,45	5,7	1,94	5,7	84,5	2,45
6,9	2,09	11	69,6	2,13	3,8	1,81	3,8	73,7	2,13

Tabla 21. Valores experimentales y calculados por el modelo a la salida del BTF. Carga $2,89 \text{ gSm}^{-3}\text{h}^{-1}$

EXPERIMENTAL						MODELO			
C_0	C_s	EBRT	R	EC	Cln	C_s	Cln	R	EC
ppmv (H_2S)	s	%	$\text{gSm}^{-3}\text{h}^{-1}$	ppmv	ppmv (H_2S)	%	$\text{gSm}^{-3}\text{h}^{-1}$	ppmv	ppmv (H_2S)
93,7	0,2	150	99,8	3,72	13	0,07	13	99,9	3,72
74,9	0,3	120	99,5	3,71	12,9	0,23	12,9	99,7	3,71
56,2	0,5	90	99,1	3,68	12,5	0,67	12,5	98,8	3,68
37,5	0,9	60	97,5	3,57	11,3	1,57	11,3	95,8	3,57
18,7	1,7	30	91	3,19	8,2	2,67	8,2	85,7	3,19
12,5	2,3	20	81,7	2,89	6,5	2,8	6,5	77,6	2,89
6,9	3,2	11	53,8	2,36	4,3	2,51	4,3	63,5	2,36

Tabla 22. Valores experimentales y calculados por el modelo. $h=0,275 \text{ m}$; Carga $2,89 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$

EXPERIMENTAL						MODELO			
C_0	C_s	EBRT	R	EC	Cln	C_s	Cln	R	EC
ppmv (H_2S)	s	%	$\text{gSm}^{-3}\text{h}^{-1}$	ppmv	ppmv (H_2S)	%	$\text{gSm}^{-3}\text{h}^{-1}$	ppmv	ppmv (H_2S)
93,7	0,3	150	99,7	4,99	14,1	0,12	14,1	99,9	4,99
74,9	0,5	120	99,4	4,97	14	0,37	14	99,5	4,97
56,2	0,8	90	98,5	4,91	13,7	1,01	13,7	98,2	4,91
37,5	2,7	60	92,7	4,68	12,7	2,37	12,7	93,7	4,68
18,7	3,5	30	81,5	3,89	9,7	4,13	9,7	78	3,89
12,5	4	20	68,1	3,29	7,6	4,26	7,6	65,9	3,29
6,9	3,7	11	46,3	2,38	5,1	3,59	5,1	47,7	2,38

Tabla 23. Valores experimentales y calculados por el modelo. $h=0,205 \text{ m}$; Carga $2,89 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$

EXPERIMENTAL						MODELO			
C ₀	C _s	EBRT	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)		s	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	
93,7	1,7	150	98,2	7,67	25,1	2,5	25,1	97,3	7,67
74,9	3,5	120	95,3	7,47	23,9	3,82	23,9	94,9	7,47
56,2	4,8	90	91,5	7,12	21,7	5,41	21,7	90,4	7,12
37,5	6,6	60	82,4	6,44	18	6,85	18	81,7	6,44
18,7	7,7	30	59	4,97	11,9	6,91	11,9	63,1	4,97
12,5	6,1	20	51,2	4,06	8,9	6,04	8,9	51,6	4,06
6,9	4,4	11	36,5	2,83	5,5	4,4	5,5	35,9	2,83

Tabla 24. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,130 m; Carga 2,89 gS m⁻³h⁻¹

EXPERIMENTAL						MODELO			
C ₀	C _s	EBRT	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)		s	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	
93,7	9,6	150	89,8	15,41	36,2	9,08	36,2	90,3	15,41
74,9	11,4	120	84,8	14,46	33,8	11,45	33,8	84,7	14,46
56,2	11,3	90	79,9	12,95	30	13,55	30	75,9	12,95
37,5	12,2	60	67,5	10,55	24,1	14,31	24,1	61,8	10,55
18,7	12,2	30	34,8	6,64	14,8	11,44	14,8	38,9	6,64
12,5	9,1	20	27,4	4,82	10,6	8,96	10,6	28,3	4,82
6,9	5,7	11	17,2	2,88	6,3	5,71	6,3	16,9	2,88

Tabla 25. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,060 m; Carga 2,89 gS m⁻³h⁻¹

En las siguientes Tablas (26, 27, 28, 29 y 30) se exponen los valores experimentales y los calculados por el modelo a las distintas alturas del biofiltro para la carga de 11,50 gS m⁻³h⁻¹.

EXPERIMENTAL						MODELO			
C ₀	C _s	EBRT	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)		s	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	
372,2	0,2	150	99,9	11,50	49,9	0,16	47,9	99,96	11,50
297,76	0,5	120	99,8	11,49	46,2	0,59	47,8	99,8	11,48
223,32	1,9	90	99,1	11,41	46,5	2,07	47,3	99,1	11,40
148,88	7,8	60	94,8	10,90	47,9	6,24	45,0	95,8	11,02
74,44	12,9	30	82,6	9,51	35,1	13,66	35,8	81,7	9,39
49,627	14,4	20	71,0	8,17	28,5	15,06	29,0	69,7	8,01
27,295	13,6	11	50,2	5,78	19,7	13,42	19,5	50,8	5,85

Tabla 26. Valores experimentales y calculados por el modelo para la salida del BTF. Carga 11,50 gSm⁻³h⁻¹

EXPERIMENTAL						MODELO			
C ₀	C _s	EBRT	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)		s	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	
372,2	0,6	150	99,8	14,77	58,5	0,74	59,7	99,8	14,77
297,76	3,5	120	98,8	14,62	66,3	2,02	59,2	99,3	14,70
223,32	5,3	90	97,6	14,44	58,4	5,08	57,7	97,7	14,46
148,88	10,3	60	93,1	13,78	51,8	10,99	52,9	92,6	13,70
74,44	15,9	30	78,6	11,63	38,0	17,66	39,5	76,3	11,29
49,627	17,9	20	64,0	9,47	31,1	17,79	31,0	64,1	9,49
27,295	14,8	11	45,7	6,77	20,4	14,70	20,4	46,1	6,83

Tabla 27. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,275 m; Carga 11,50 gSm⁻³h⁻¹

EXPERIMENTAL						MODELO			
C ₀	C _s	EBRT	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)		s	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	
372,2	7,2	150	98,1	19,46	92,6	3,61	79,5	99,0	19,66
297,76	5,9	120	98,0	19,45	74,5	7,06	77,7	97,6	19,38
223,32	10,7	90	95,2	18,89	70,1	12,71	73,5	94,3	18,72
148,88	19,9	60	86,6	17,19	64,1	20,08	64,3	86,5	17,17
74,44	23,5	30	68,4	13,57	44,2	24,38	44,8	67,2	13,35
49,627	22,4	20	54,8	10,88	34,2	22,44	34,3	54,8	10,87
27,295	17,1	11	37,5	7,44	21,8	17,00	21,7	37,7	7,49

Tabla 28. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,205 m; Carga 11,50 gSm⁻³h⁻¹

EXPERIMENTAL						MODELO			
C ₀	C _s	EBRT	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)		s	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	
372,2	19,7	150	94,7	29,64	119,9	19,27	119,2	94,8	29,68
297,8	25,4	120	91,5	28,63	110,7	26,15	111,7	91,2	28,55
223,3	35,5	90	84,1	26,33	102,1	33,24	99,8	85,1	26,64
148,9	35,8	60	76,0	23,78	79,3	38,06	81,2	74,4	23,30
74,4	35,2	30	52,7	16,50	52,4	34,37	51,8	53,8	16,85
49,6	28,3	20	42,9	13,42	38,0	28,65	38,2	42,3	13,23
27,3	19,7	11	27,7	8,67	23,3	19,71	23,3	27,8	8,70

Tabla 29. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,130 m; Carga 11,50 gSm⁻³h⁻¹

EXPERIMENTAL						MODELO			
C ₀	C _s	EBRT	R	EC	Cln	Cs	Cln	R	EC
ppmv (H ₂ S)		s	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	ppmv	ppmv (H ₂ S)	%	gSm ⁻³ h ⁻¹	
372,2	84,6	150	77,3	52,41	194,1	84,7	194,2	77,2	52,39
297,8	82,5	120	72,3	49,03	167,7	83,5	168,5	72,0	48,81
223,3	77,6	90	65,2	44,25	137,9	78,7	138,6	64,8	43,93
148,9	74,9	60	49,7	33,68	107,7	68,1	103,2	54,3	36,82
74,4	46,0	30	38,2	25,93	59,1	46,9	59,6	37,1	25,13
49,6	34,8	20	29,9	20,29	41,8	35,6	42,2	28,3	19,20
27,3	22,5	11	17,7	11,97	24,8	22,4	24,8	18,0	12,22

Tabla 30. Valores experimentales y calculados por el modelo. h= 0,060 m; Carga 11,50 gSm⁻³h⁻¹

Al realizar el ajuste se obtuvieron los siguientes parámetros cinéticos (Tabla 31):

L	2,89 (gS m ⁻³ h ⁻¹)				11,50 (gS m ⁻³ h ⁻¹)		
h	V _{max}	K _m	r ²		V _{max}	K _m	r ²
0,060	172,4	369,2	0,986		100,7	179,2	0,992
0,130	14,9	23,6	0,987		71,7	168,8	0,998
0,205	12,8	22,2	0,967		50,6	125,2	0,994
0,275	5,2	5,2	0,899		37,0	90,0	0,990
0,354	3,5	2,4	0,992		34,5	95,8	0,989
m	gS m ⁻³ h ⁻¹	ppmv			gS m ⁻³ h ⁻¹	ppmv	

Tabla 31. Valores de las constantes cinéticas para las cargas de 2,89 y 11,50 gS m⁻³h⁻¹

Obtenemos, al igual que en el estudio anterior, una disminución de los valores de las constantes cinéticas conforme aumenta la altura del lecho. En la Figura 59, se han representado los valores experimentales de la capacidad de eliminación frente a la concentración media logarítmica experimentales y calculados por el modelo.

El efecto del tiempo de residencia sobre la carga se aprecia mejor si se representan los porcentajes de eliminación frente al tiempo de residencia en función de la altura del biofiltro. (Figuras 60 y 61).

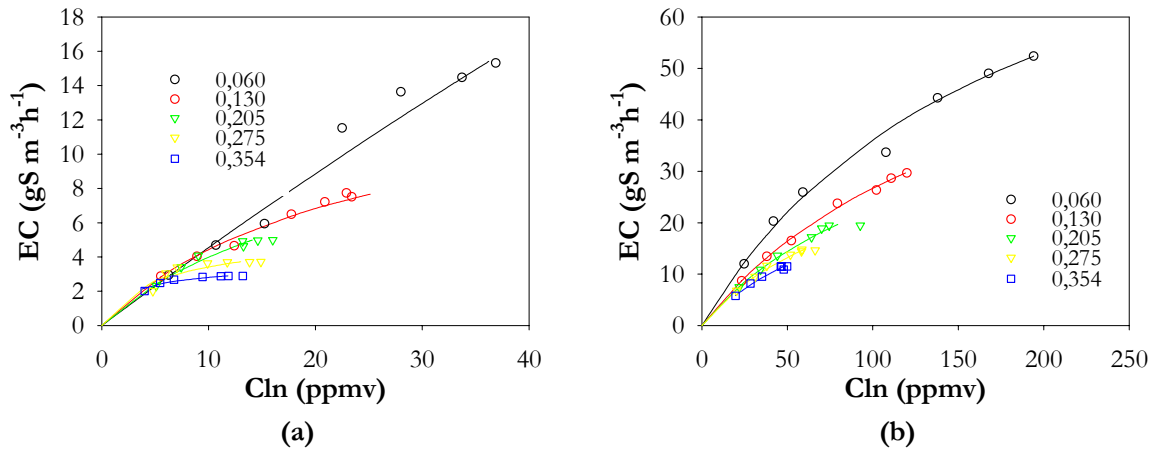


Fig 59. Capacidad de eliminación frente a concentración media logarítmica. Valores experimentales y calculados por el modelo. (a) Carga $2,89 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$; (b) Carga $11,50 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$

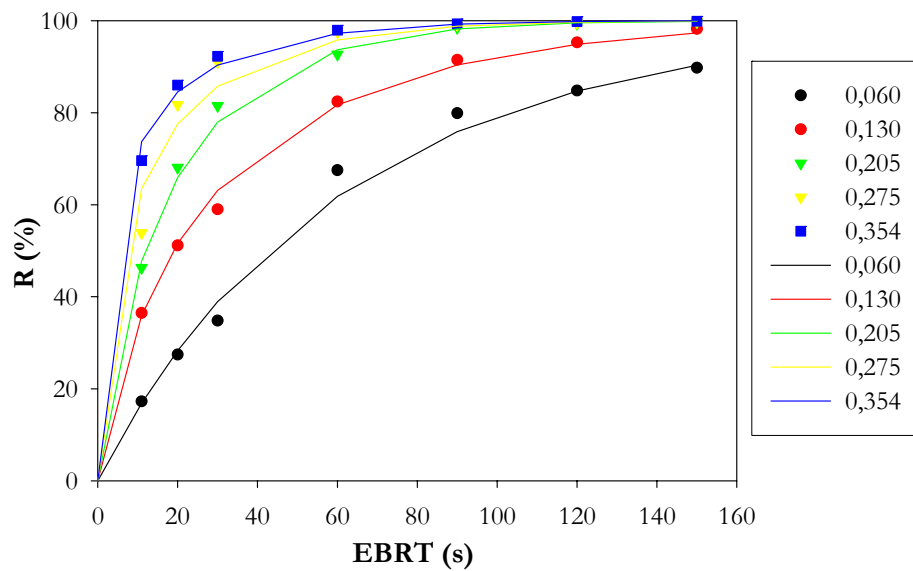


Fig 60. Porcentaje de eliminación frente tiempo de residencia en función de la altura del biofiltro. Valores experimentales (símbolos) y calculados por el modelo (rectas). Carga $2,89 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$

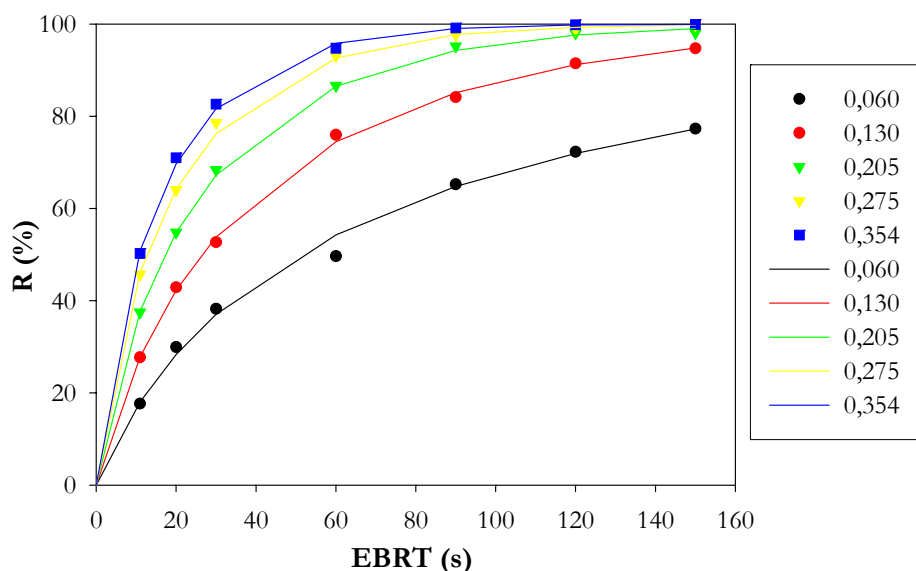


Fig 61. Porcentaje de eliminación frente a tiempo de residencia en función de la altura del biofiltro. Valores experimentales (símbolos) y calculados por el modelo (rectas). Carga 11,50 gS m⁻³h⁻¹

En las Figuras anteriores se observa que la mayor parte de la eliminación se produce en la primera sección del biofiltro, siendo ésta mayor conforme se aumenta el tiempo de residencia del gas. Para tiempos de residencia altos la diferencia entre los porcentajes de eliminación a las distintas alturas no son muy acusadas, lo que sugiere que la reducción del porcentaje de eliminación al disminuir el tiempo de residencia del gas no es debida a un tiempo insuficiente de reacción entre el sustrato y la biomasa, sino que se debe a un problema de difusión del ácido sulfhídrico desde la fase gas a la fase líquida tal y como reportan Yang and Allen (1994a). Algunos estudios previos indican que las bacterias del género *Thiobacillus* son capaces de metabolizar H₂S en solo 1-2 s (Sublette and Sylvester 1987); por tanto, la biomasa presente en el biofiltro tiene una capacidad de degradación independientemente del flujo de gas que se suministre. Esta capacidad de degradación máxima se obtuvo en el experimento anterior, realizando el estudio de la eliminación de H₂S con un EBRT de 150 segundos. Por tanto, puede afirmarse que el descenso que se produce al disminuir el tiempo de residencia, se debe a un problema de difusión del sustrato desde la fase gas a la fase líquida, siendo más acusada

para los tiempos de residencia más bajos. Por tanto, cabría esperarse una menor diferencia entre los valores de eliminación cuando se mejore la transferencia gas-líquido.

En la Tabla 32, se exponen las ecuaciones obtenidas para el cálculo de las constantes cinéticas en función de la altura del lecho, utilizando para ello un modelo de ajuste multiplicativo.

L	2,89 (gS m ⁻³ h ⁻¹)		11,5 (gS m ⁻³ h ⁻¹)	
	$V_{\max} = 0,35 h^{-2,12}$	$K_m = 0,17 h^{-2,69}$	$V_{\max} = 17,73 h^{-0,64}$	$K_m = 61,37 h^{-0,41}$
r ²	0,950	0,952	0,974	0,842

Tabla 32. Ecuaciones empíricas para el cálculo de las constantes cinéticas para las cargas de 2,89 y 11,50 gS m⁻³h⁻¹

Empleando las ecuaciones de la Tabla 32 podemos obtener los valores de las constantes cinéticas a cada altura de la columna y, conocidos éstos, a partir de la ecuación del modelo propuesto, pueden realizarse iteraciones que permitan predecir la concentración a cualquier altura de columna para la carga de trabajo empleada. Los valores obtenidos como consecuencia de la linealización de las constantes cinéticas en función de la altura de biofiltro fueron:

L	2,89 (gS m ⁻³ h ⁻¹)		11,50 (gS m ⁻³ h ⁻¹)	
h	V _{max}	K _m	V _{max}	K _m
0,060	134,6	325,2	106,4	196,4
0,130	26,2	40,8	65,0	142,7
0,205	10,0	12,0	48,7	118,2
0,275	5,4	5,4	40,3	104,7
0,354	3,2	2,8	34,4	94,3
m	gS m ⁻³ h ⁻¹	ppmv	gS m ⁻³ h ⁻¹	ppmv

Tabla 33. Valores de las constantes cinéticas empíricas para las cargas de 2,89 y 11,50 gS m⁻³h⁻¹

Así pues, en la Figura 62, se han representado los valores de los porcentajes de eliminación experimentales y ajustados por el modelo, frente a la altura del lecho a distintos tiempos de residencia del gas.

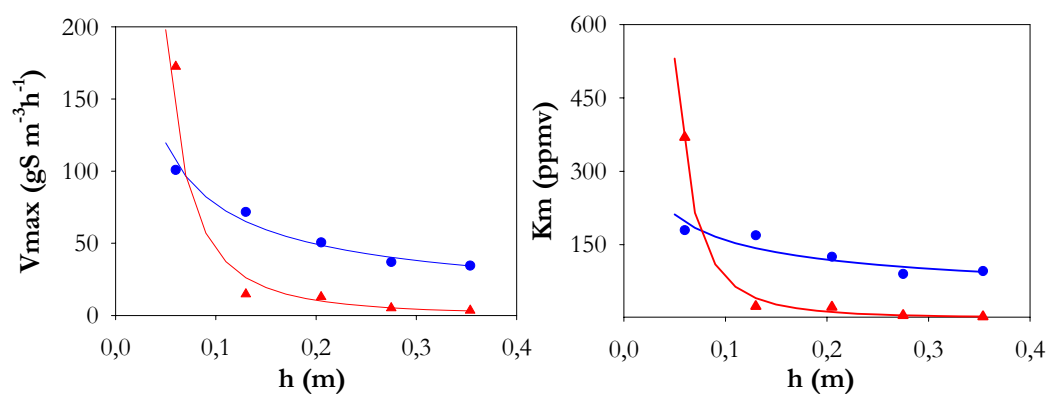


Fig 62. Comparación de los valores de V_{max} y K_m . Carga 2,89 (▲); Carga 11,50 (●)

En las Figuras 63 y 64, se han representado los valores de los porcentajes de eliminación experimentales y ajustados por el modelo frente a la altura del lecho a los distintos tiempos de residencia del gas.

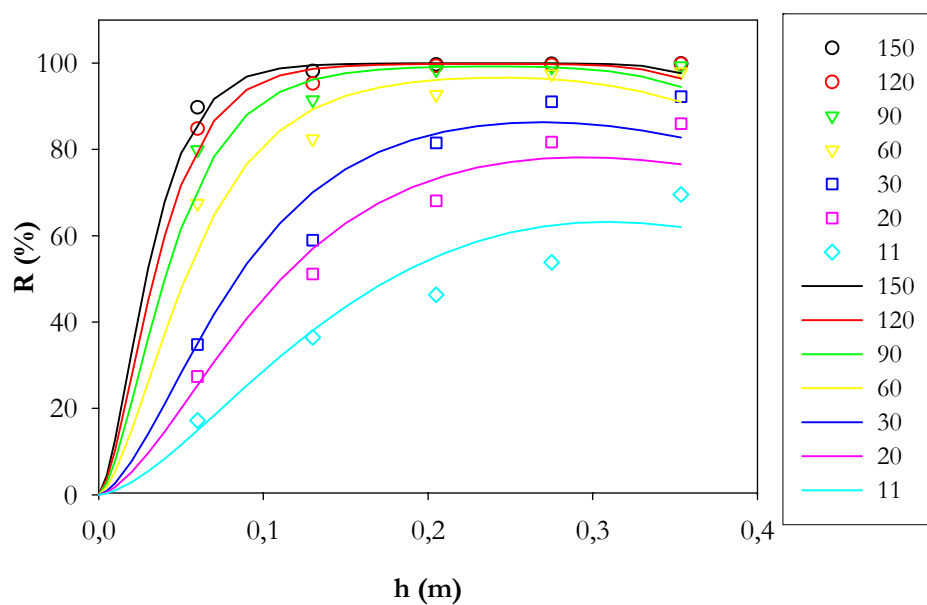


Fig 63. Porcentajes de eliminación. Valores experimentales (símbolos) frente a predichos por el modelo (rectas). Carga $2,89\ gS\ m^{-3}h^{-1}$

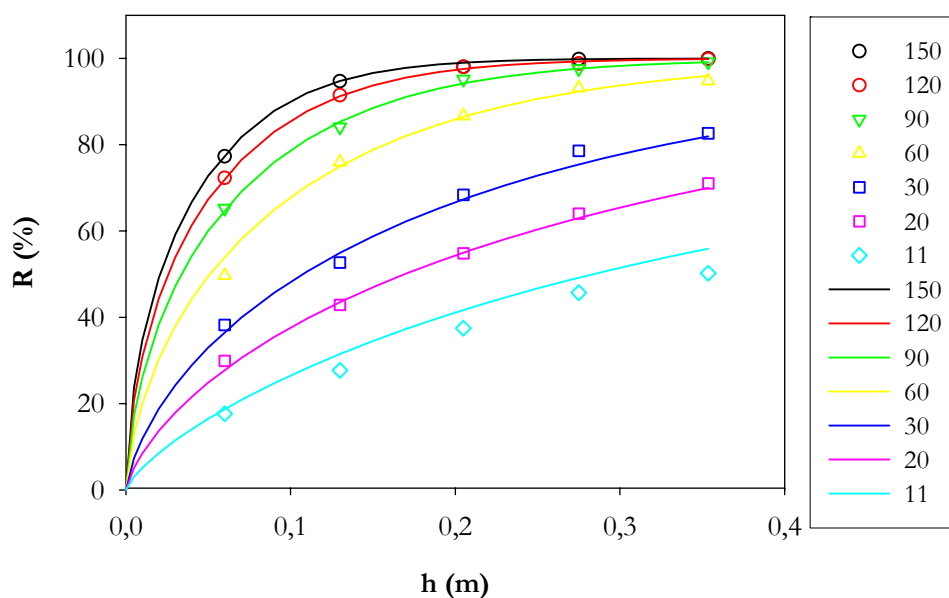


Fig 64. Porcentajes de eliminación. Valores experimentales (símbolos) frente a predichos por el modelo (rectas). Carga 11,50 gS m⁻³h⁻¹

Las curvas del modelo dan, salvo para la carga de 2,89 gS m⁻³h⁻¹, un buen ajuste. Habría que considerar que a esta carga de trabajo, la más baja de las ensayadas, los errores en la medida de concentraciones pequeñas pueden impedir comprobar la bondad del modelo propuesto.

Al mismo tiempo, hay que reseñar que el biofiltro empleado tiene algunas deficiencias desde el punto de vista del diseño hidrodinámico, que dificultan la transferencia de materia, y que, por tanto, impiden la obtención de valores más altos de eliminación. Algunas de estas deficiencias, fácilmente mejorables en un prototipo a escala de planta piloto, son:

- Sistema de aspersión del medio de recirculación: el sistema de aspersión del medio de recirculación es poco eficiente, lo que sumado al pequeño diámetro de la columna, provoca que gran parte del medio de recirculación circule pegado a la pared del biofiltro. Este hecho supone una disminución de la eficacia en la transferencia de materia.

- Distribución poco uniforme del soporte en el biofiltro debido a la compactación del mismo. Este hecho puede provocar, junto con la formación en el medio de azufre elemental, un aumento de la pérdida de la carga.

Mediante la corrección de estas deficiencias se podría lograr mejorar la transferencia de materia y minimizar la caída de la eliminación, que se produce al disminuir el tiempo de residencia del gas para los distintos valores de la carga de entrada en el sistema

4.1.3.6. Estudio del efecto de la pérdida de carga

La pérdida de carga de la corriente gaseosa que atraviesa el lecho es uno de los parámetros que más afecta al coste de operación; así Leson *et al.* (1995), reportan que un incremento de la pérdida de presión desde 4 a 25 cm de agua supone un incremento de la energía necesaria desde 7 a 27 kW en sólo 6 meses.

El tiempo de residencia del gas más bajo fue de 11 segundos, para el cual se obtuvo una pérdida de carga de 2,3 cm de agua (6,5 cm de agua por metro de altura). En la Figura 65 se ha representado la pérdida de carga por metro de altura de columna frente a la velocidad superficial del gas, correspondiente a los tiempos de residencia de 150, 120, 90, 60, 30, 20 y 11 segundos.

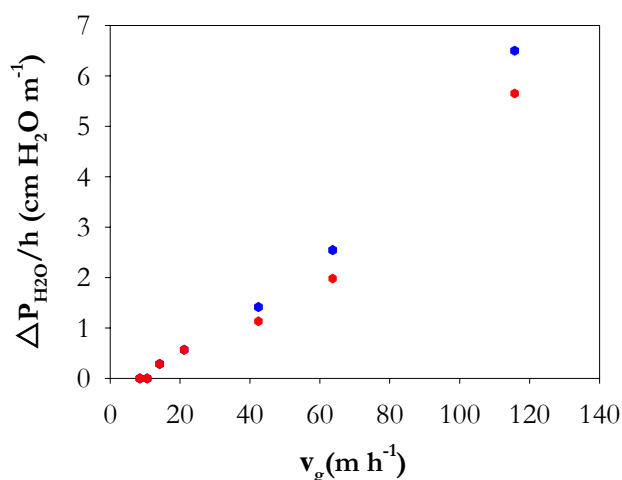


Fig 65. Pérdida de carga por metro de columna frente a velocidad superficial del gas. ● BTF con biomasa inmovilizada; ● BTF sin biomasa

Como se puede apreciar, al tener biomasa se incrementa ligeramente la pérdida de carga por metro de columna. Según la ecuación de Ergun (1952):

$$\frac{\Delta P}{h v_g} = 150 \frac{\mu_G}{D_p^2} \frac{(1-\varepsilon)^2}{\varepsilon^3} + 1,75 \frac{\rho_G}{D_p} \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon^3} v_g$$

A partir de esta ecuación englobando términos podemos obtener (Ramirez *et al.*, 2003):

$$\frac{\Delta P}{h v_g} = \alpha + \beta v_g.$$

En la Figura 66 se han representado las linealizaciones de la ecuación anterior para el BTF con y sin biomasa.

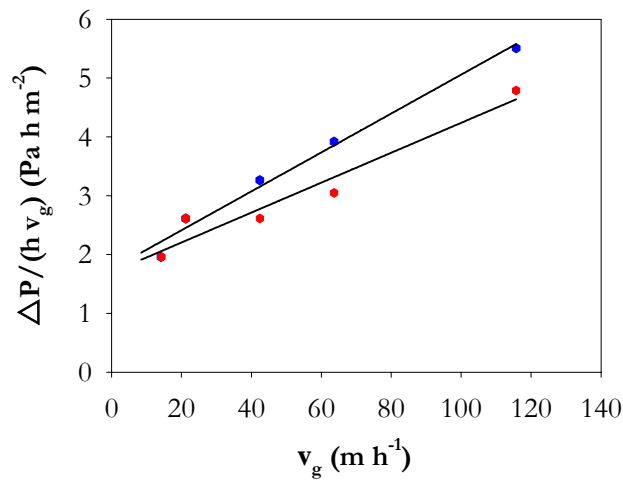


Fig 66. Obtención de los parámetros de la ecuación de Ergun. ● BTF con biomasa inmovilizada; ● BTF sin biomasa

En la Tabla 34 se exponen los valores alfa y beta así como los coeficientes de regresión lineal de cada ajuste (r^2).

	Con biomasa	Sin biomasa	
α	0,4416	0,2248	Pa h m ⁻²
β	0,0382	0,0294	Pa h ² m ⁻³
r^2	0,9904	0,9880	

Tabla 34. Parámetros de la ecuación de Ergun

A la vista de los resultados podemos comprobar que la presencia de biomasa y azufre (derivado de la oxidación biológica del H_2S) en el soporte no incrementa mucho la pérdida de carga de la columna, en comparación con el soporte sin colonizar. Esto supone una gran ventaja a la hora de los costes de operación e instalación en caso de un escalamiento industrial. De ambos valores (alfa y beta) el que tiene una mayor influencia en el aumento de la pérdida de carga es el valor beta al tratarse de la pendiente de la recta. Ramírez *et al.* (2003) estudian cinco tipos de soportes en un biofiltro, determinando los valores alfa y beta para cada material; los valores beta que obtuvieron fueron de 0,128; 4,934; 4,167; 2,271; 1,642 Pa h m⁻² para cáscaras de cacahuete, bagazo de caña de azúcar, rastrojo de maíz, cáscara de arroz, y cáscara de coco respectivamente. Para la espuma de poliuretano el valor beta obtenido en nuestro estudio es muy inferior a los anteriores.

4.2. ELIMINACIÓN DE AMONIACO EN AIRE MEDIANTE *Nitrosomonas europaea* INMOVILIZADA EN UN BIOFILTRO DE ESCURRIMIENTO EMPAQUETADO CON ESPUMA DE POLIURETANO

4.2.1. Cinética de crecimiento

La bacteria *Nitrosomonas europaea* oxida el amoníaco a nitrito y en la naturaleza convive conjuntamente con la especie *Nitrobacter sp.*, que realiza la oxidación de nitrito hasta nitrato, aunque se ha comprobado que la especie *Nitrosomonas europaea* es capaz de oxidar hasta nitrógeno en condiciones limitantes de oxígeno (Poth 1986; Shrestha *et al.*, 2001). Como paso previo al estudio de la inmovilización, se realizó un experimento con el objetivo de determinar la cinética de crecimiento del cultivo en medio ATTC#2265. En la Figura 67, se ha representado la variación del pH, de la concentración de amoníaco, de nitrito y biomasa total frente al tiempo de cultivo.

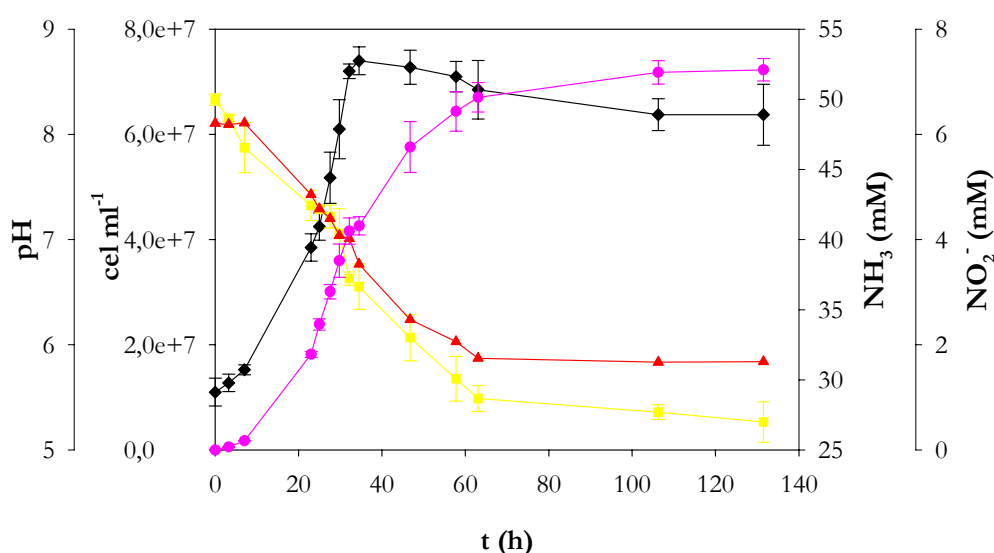


Fig 67. Cinética *Nitrosomonas europaea*. Concentraciones de biomasa (◆); amoníaco (■); nitrito (●) y pH (▲)

La concentración de biomasa inicial fue de $1,1 \cdot 10^7$ cel ml⁻¹, alcanzándose un máximo de la población celular de $7,4 \cdot 10^6$ cel ml⁻¹ a las 34 horas; momento a partir del cual la biomasa

empieza a decrecer lentamente. El pH inicial del cultivo es de 8,0, y una vez alcanzada la fase exponencial de crecimiento, el pH decrece linealmente hasta un valor constante de 5,8 a las 63 horas. A partir de este momento, disminuye notablemente el metabolismo de la bacteria, manteniéndose constantes las concentraciones de amoníaco y nitrito. La concentración de amoníaco disminuyó desde 50 mM hasta 27 mM y la concentración de nitrito llegó hasta 7,22 mM.

Para calcular las velocidades de consumo de amoníaco y de producción de nitrito se ha supuesto una variación lineal de la concentración en la fase exponencial de crecimiento, obteniéndose una velocidad de consumo de amoníaco de $0,3477 \text{ mmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y de producción de nitrito de $0,1446 \text{ mmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Los coeficientes de regresión (r^2) fueron de 0,982 y 0,961, respectivamente.

La velocidad específica máxima de crecimiento se puede obtener representando el logaritmo neperiano del cociente de la concentración de biomasa en cada instante y la concentración de biomasa inicial frente al tiempo (Figura 68).

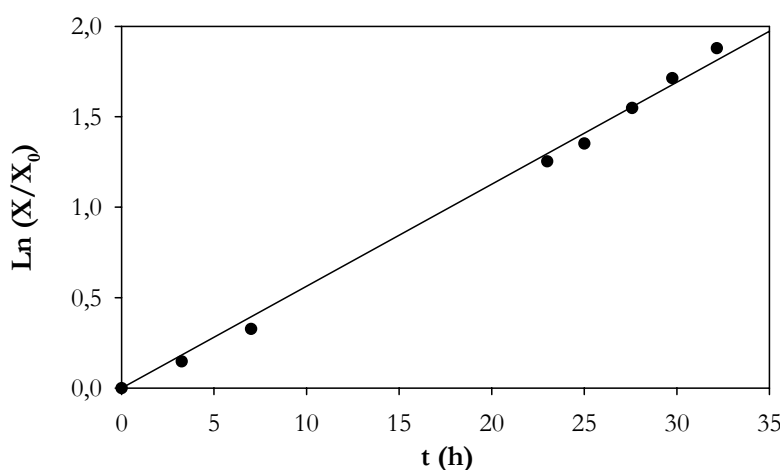


Fig 68. Cálculo de la velocidad específica máxima de crecimiento de *Nitrosomonas europaea*

De esta forma, se obtuvo una velocidad específica de crecimiento (μ) de $0,0564 \text{ h}^{-1}$ con un coeficiente de regresión lineal (r^2) de 0,9958. El valor obtenido se encuentra dentro del rango obtenido por Prosser (1989) para cultivos continuos de *Nitrosomonas europaea* ($0,039\text{-}0,064 \text{ h}^{-1}$).

En cultivos discontinuos, Vadivelu *et al.* (2006) obtuvieron una velocidad específica máxima de $0,043 \pm 0,007 \text{ h}^{-1}$ a pH 7 y 30°C.

4.2.2. Desarrollo y adaptación de biopelículas

4.2.2.1. Inmovilización en matraces

Se llevaron a cabo 5 ciclos de inmovilización, con una duración total de 346 horas, para alcanzar una cantidad de biomasa inmovilizada de $3,97 \pm 0,70 \cdot 10^9$ células por gramo de espuma de poliuretano. La duración de cada ciclo fue de 54,8; 47,3; 45,2; 50,0 y 46,7 horas respectivamente, y el último ciclo se prolongó, una vez realizado el recuento de biomasa, hasta una duración total de 110 horas. En cada ciclo se reemplazó el medio del cultivo por medio nuevo antes de que el pH bajase de 6,0, puesto que a ese pH la bacteria disminuye su actividad metabólica y crecimiento (Hunik *et al.*, 1992). Mediante la realización de ciclos consecutivos de retirada y reposición de medio se pretende inmovilizar la mayor cantidad de bacterias sobre el soporte. Esta técnica ha sido empleada anteriormente por Mesa *et al.* (2002) para la inmovilización de *Thiobacillus ferrooxidans* sobre este mismo soporte.

Este experimento de inmovilización se realizó por duplicado y se pudo comprobar que los dos cultivos evolucionaron de igual forma, lo que nos permite comprobar la reproducibilidad de la técnica utilizada. En las Figuras 69 y 70 tenemos representadas la evolución de la concentración de amoníaco, concentración de nitrito y pH para los cultivos A y B respectivamente.

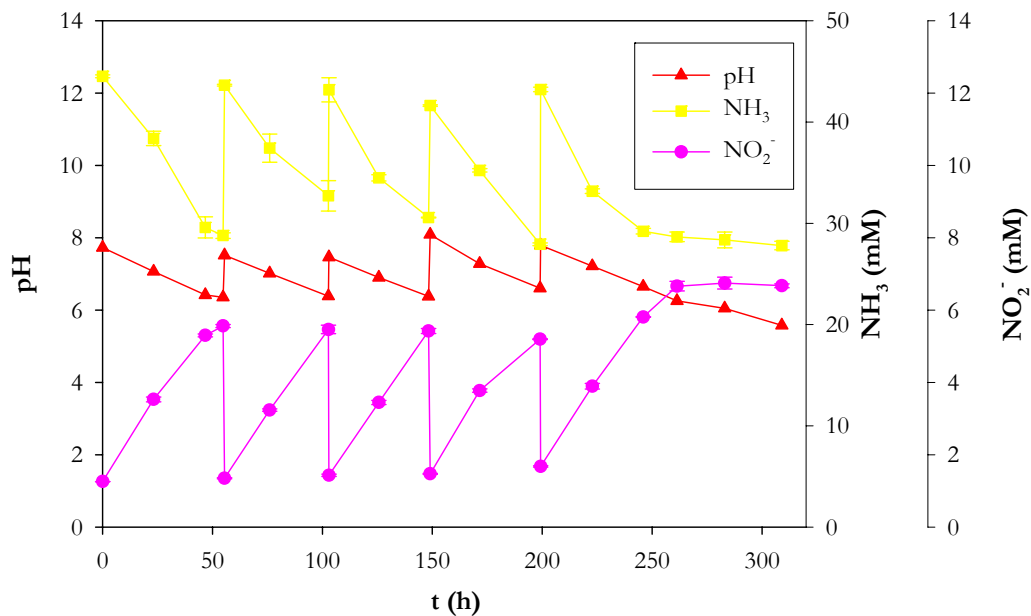


Fig 69. Evolución del pH y de las concentraciones de amoníaco y nitrito frente al tiempo en la inmovilización en matraces (Cultivo A)

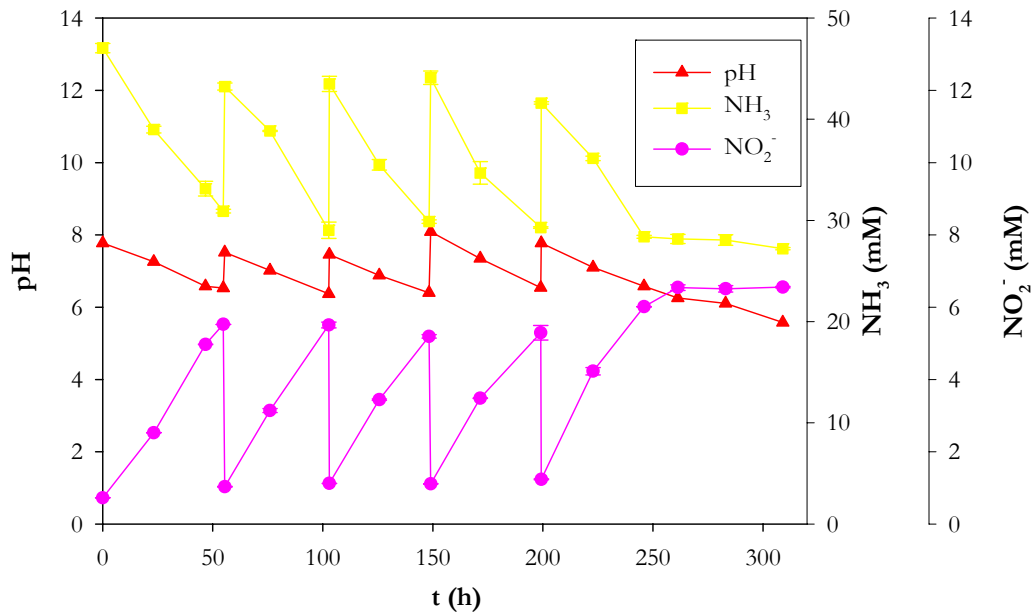


Fig 70. Evolución del pH y de las concentraciones de amoníaco y nitrito frente al tiempo en la inmovilización en matraces (Cultivo B)

La velocidad de consumo de sustrato fue prácticamente constante e independiente de la cantidad de biomasa inmovilizada en el soporte, alcanzando valores medios de $0,274 \pm 0,018$ y $0,295 \pm 0,005$ (mmol NH_3) $\text{h}^{-1} \text{l}^{-1}$ para los cultivos A y B respectivamente. Al igual que para el cultivo de *Thiobacillus thioparus*, no se produce un aumento de la velocidad de consumo de sustrato al aumentar la cantidad de biomasa inmovilizada. Este fenómeno, contrario de mayor cantidad de biomasa y mantenimiento de la velocidad de consumo de sustrato, puede deberse a un problema de transferencia de oxígeno que limite la velocidad de consumo de sustrato, siendo el oxígeno el reactivo controlante de la oxidación biológica. La velocidad de producción de nitrito también se mantuvo constante con valores medios de $0,083 \pm 0,005$ y $0,092 \pm 0,005$ (mmol NO_2) $\text{h}^{-1} \text{l}^{-1}$ para los cultivos A y B respectivamente.

En la Tabla 35, se representan los valores de las velocidades de consumo de sustrato y producción de producto en cada ciclo, al igual que el valor medio.

Cultivo	Amoníaco		Nitrito	
	A	B	A	B
Ciclo	$\text{mmol l}^{-1} \text{h}^{-1}$			
1	-0,287	-0,294	0,078	0,088
2	-0,231	-0,301	0,087	0,095
3	-0,279	-0,301	0,088	0,090
4	-0,274	-0,296	0,074	0,084
5	-0,299	-0,283	0,088	0,102
media	-0,274	-0,295	0,083	0,092
+/-	0,018	0,005	0,005	0,005

Tabla 35. Velocidades de consumo de amoníaco y producción de nitrito por unidad de volumen en la inmovilización en matraces

Si referimos las velocidades de consumo y producción con respecto a la cantidad de soporte (Tabla 36), obtenemos una velocidad de consumo de sustrato de $0,047 \pm 0,003$ y $0,051 \pm 0,001$ $\text{mmol (g soporte)}^{-1} \text{h}^{-1}$ y de generación de nitrito de $0,014 \pm 0,001$ y $0,016 \pm 0,001$ $\text{mmol (g soporte)}^{-1} \text{h}^{-1}$ para los cultivos A y B respectivamente.

Cultivo	Amoniac		Nitrito	
	A	B	A	B
Ciclo	mmol (g soporte) ⁻¹ h ⁻¹			
1	-0,049	-0,050	0,013	0,015
2	-0,040	-0,052	0,015	0,016
3	-0,048	-0,052	0,015	0,015
4	-0,047	-0,051	0,013	0,014
5	-0,051	-0,048	0,015	0,018
media	-0,047	-0,051	0,014	0,016
+/-	0,003	0,001	0,001	0,001

Tabla 36. Velocidades de consumo de amoniac y producción de nitrito por unidad de peso de soporte en la inmovilización en matraces

En la Figura 71 está representada la biomasa total al final de cada ciclo, siendo el máximo alcanzado de $3,97 \pm 0,70 \cdot 10^9$ células por gramo de soporte, con un total de 7 gramos de soporte inmovilizado. A partir de esta Figura se puede observar que son suficientes 4 ciclos para alcanzar el máximo de inmovilización.

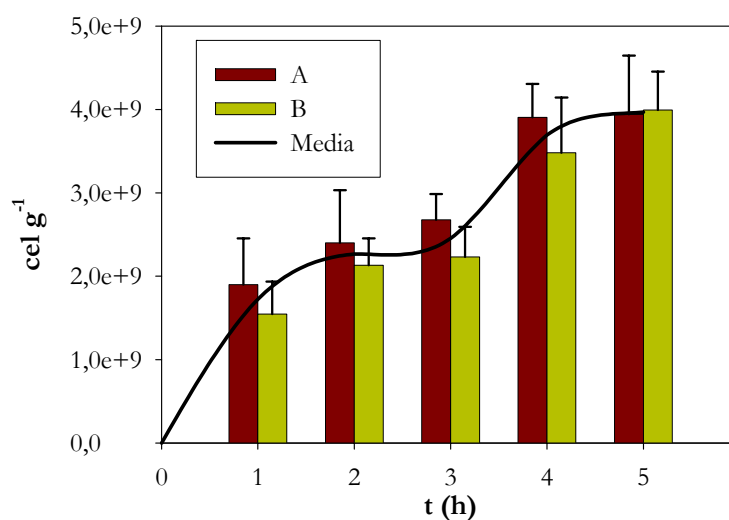


Fig 71. Evolución de la biomasa Inmovilizada en la inmovilización en matraces de *Nitrosomonas europaea*

La Figura 72 muestra una imagen de microscopía electrónica de barrido en la que se pueden observar las bacterias inmovilizadas distribuidas uniformemente sobre la superficie del soporte.

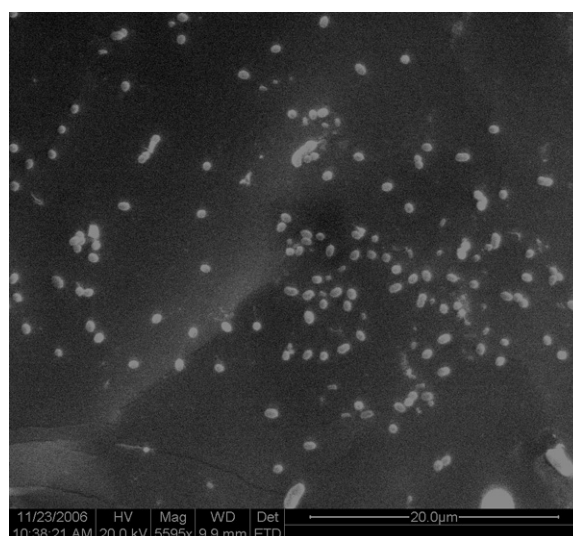


Fig 72. Imagen SEM de *Nitrosomonas europaea* sobre el soporte

4.2.2.2. Inmovilización *in situ*

Se llevaron a cabo 10 ciclos de inmovilización con una duración total de 310 horas. El primer ciclo fue el más largo con una duración total de 78,0 horas, siendo el resto de ciclos más cortos, con una duración media de 23,7 horas. En la Figura 73 aparece una fotografía del sistema empleado para la inmovilización.

Las muestras fueron tomadas, por duplicado, en el punto medio del biofiltro y en este caso la inmovilización no fue tan homogénea como en el experimento anterior, debido a la propia dinámica de la inmovilización. El soporte presentó una gran variación en el número de bacterias inmovilizadas, como puede observarse en la Figura 74. Por tanto, como consecuencia de esta heterogeneidad en la inmovilización, al finalizar el 4º ciclo, una vez tomadas las muestras, se decidió inundar la columna durante una hora antes de llevar a cabo la sustitución del medio. El objetivo de esta inundación no era otro que tratar de conseguir la homogenización del sistema, así como, acelerar el proceso de inmovilización. Esta operación se repitió en los ciclos siguientes.

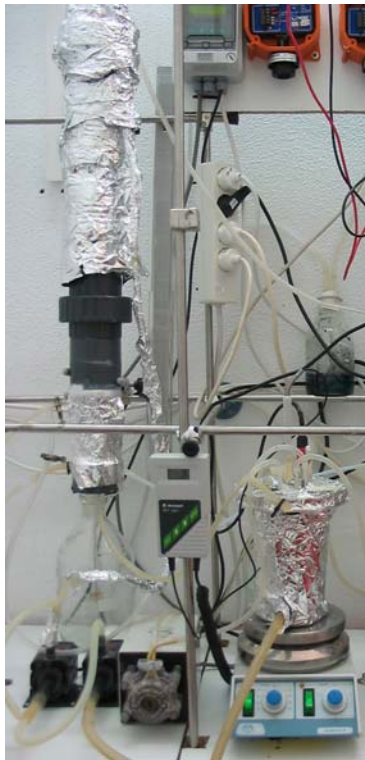


Fig 73. Fotografía del sistema de Inmovilización in situ de *Nitrosomonas europaea*

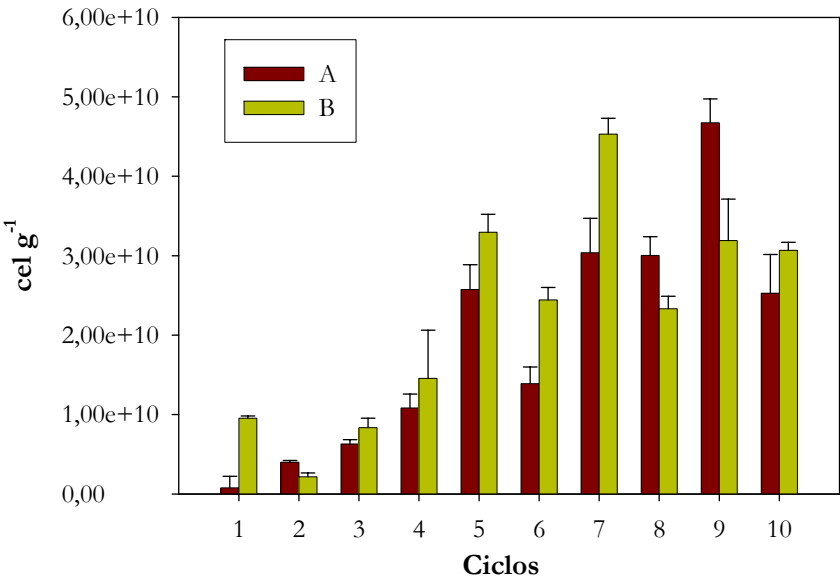


Fig 74. Evolución de la biomasa inmovilizada de *Nitrosomonas europaea* en el proceso de inmovilización in situ

La cantidad media de biomasa inmovilizada en los cuatro últimos ciclos fue de $3,29 \pm 0,52 \cdot 10^{10}$ células por gramo de soporte, siendo 8,3 veces mayor que la cantidad inmovilizada en matraces.

En las siguientes fotografías (Figura 75) se puede observar como la biopelícula empieza a crecer por las aristas del cubo de espuma de poliuretano en el cuarto ciclo, llegando en los últimos ciclos a cubrir la totalidad de la superficie, adquiriendo el soporte una tonalidad más oscura.

La velocidad de consumo de sustrato observada durante los ciclos de inmovilización no fue constante, hecho éste que corrobora la hipótesis que realizamos en el apartado anterior, sobre la posibilidad de que el aumento de la resistencia a la transferencia de oxígeno provoque una estabilización de la velocidad de consumo, al aumentar la cantidad de biomasa inmovilizada.

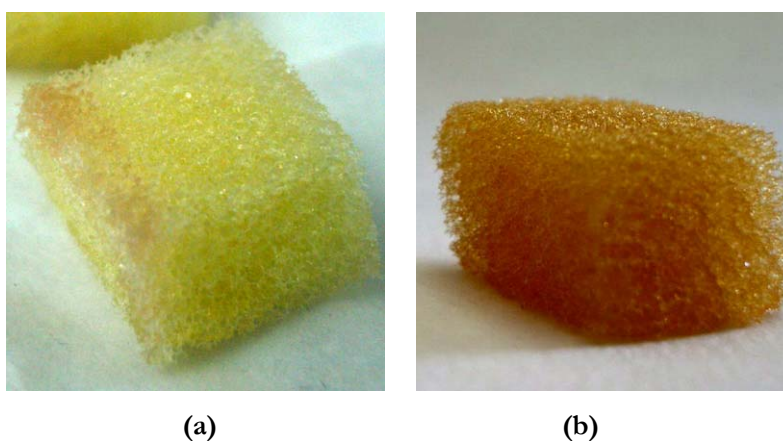


Fig 75. Fotografías del soporte en el 4º ciclo (a) y el 11º ciclo (b) de inmovilización in situ de *Nitrosomonas europaea*

La velocidad media de consumo de amoníaco entre el 5º y 11º ciclo fue de $1,844 \pm 0,038$ (mmol NH_3) $\text{l}^{-1} \text{h}^{-1}$, valor éste que supone 6,5 veces más la velocidad obtenida en el experimento de inmovilización en matraces. Si se refiere la velocidad de consumo a la cantidad de soporte empleada (10 g), se obtiene una velocidad de consumo promedio en los últimos

ciclos de $0,240 \pm 0,005$ (mmol NH_3) (g soporte) $^{-1}$ h $^{-1}$, que supone 4,9 veces más que la velocidad obtenida para la inmovilización en matraces. En la Figura 76 esta representada la velocidad de consumo en cada ciclo de inmovilización.

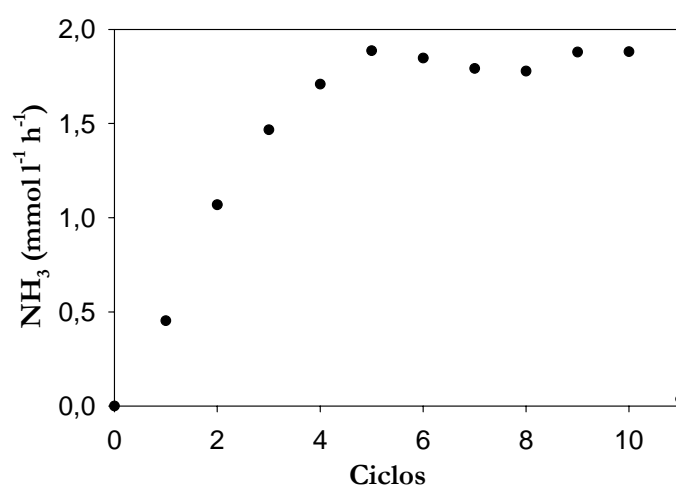


Fig 76. Velocidad de consumo de sustrato para la inmovilización in situ de *Nitrosomonas europaea*

Por tanto, mediante esta técnica se consigue una mayor inmovilización y capacidad de consumo de sustrato que en la inmovilización en matraces. Con el objetivo de conocer la cantidad de biomasa viable que se encuentra inmovilizada en la espuma, se realizó una siembra en placa en medio ATCC#2265 con un 2% p/v de agar-agar, obteniéndose una cantidad de $1,22 \cdot 10^9$ CFU por gramo de soporte.

Si se considera la velocidad de consumo de sustrato como indicador del máximo grado de inmovilización de las bacterias, se puede afirmar que, en este caso, después de 5 ciclos se podría haber pasado a la siguiente etapa, lo que supone un tiempo de inmovilización de 7 a 8 días. Este tiempo podría haberse reducido si la operación de inundación, previa a la descarga, se hubiese realizado desde el primer ciclo.

La Figura 77 muestra la evolución de las concentraciones de amoníaco, nitrito y biomasa en suspensión frente al tiempo durante el experimento de inmovilización. Como puede apreciarse, al finalizar cada ciclo la concentración de sustrato es prácticamente nula en la

mayoría de los ciclos y la cantidad de biomasa libre disminuye progresivamente como consecuencia de la adhesión de las bacterias al soporte.

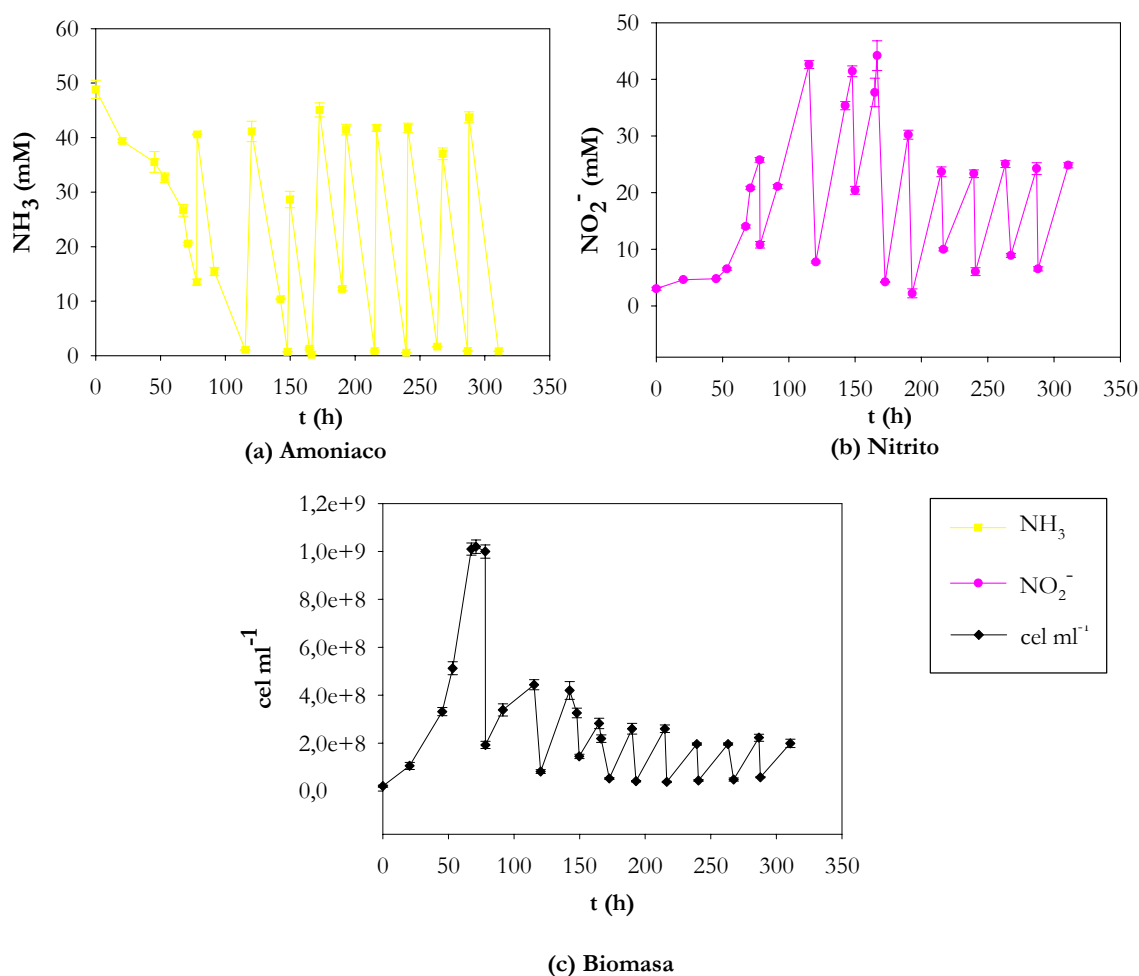


Fig 77. Evolución de la concentraciones de amoníaco (■), nitrito (●) y biomasa (◆) durante el proceso de inmovilización in situ

La mayoría de los soportes empleados en eliminación de amoníaco mediante biofiltración son soportes orgánicos, destacando el uso de turba o compost (Hartikainen *et al.*, 1996; Martín *et al.*, 1996; Yani *et al.*, 1998b; Smet *et al.*, 2000; Pagans *et al.*, 2005), aunque se han empleado soportes inorgánicos como fibras de carbón activo (Yani *et al.*, 1998a), obsidiana sinterizada (Kim *et al.*, 2000; Kim and Shoda 2002), espuma de poliuretano mezclada con polvo de carbón

activo y zeolita (Kim *et al.*, 2002b), cerámica (Kanagawa *et al.*, 2004), tubos de plástico (Melse and Mol 2004) y coque (Chou and Wang 2007). En cuanto a los microorganismos empleados, la mayoría de los estudios utilizan lodos activos de depuradora como inóculo, siendo muy pocos los estudios que utilizan cultivos puros, a pesar de estar demostrado la disminución o supresión de la fase de aclimatación mediante el empleo de éstos (Ottengraf and Van den Oever 1983).

No existen antecedentes del uso de la espuma de poliuretano para la inmovilización específica de *Nitrosomonas europaea*. Sin embargo, Kim *et al.* (2002b) han empleado espuma de poliuretano cubierta con una mezcla de polvo de carbón activo y zeolita natural para inmovilizar poblaciones amonio oxidantes provenientes de un lodo. La cantidad de bacterias inmovilizadas al cabo de 53 días de operación fue de $1,58 \cdot 10^9$ células (g soporte)⁻¹, cantidad inferior a la obtenida por la técnica de inmovilización en matraces ($3,97 \pm 0,70 \cdot 10^9$ células por gramo de soporte) y por inmovilización in situ ($3,29 \pm 0,52 \cdot 10^{10}$ células por gramo de soporte). Se ha realizado inmovilización de *Nitrosomonas europaea* por atrapamiento en materiales como alginato de calcio (van Ginkel *et al.*, 1983) y k-carragenato (Wijffels and Tramper 1989; Wijffels *et al.*, 1994). El alginato de calcio presenta una serie de desventajas, fundamentalmente de inestabilidad ante la presencia de compuestos quelatantes como iones fosfatos, citrato, lactato y glucanato, los cuales forman complejos con el calcio desestabilizando el gel (Smidsrod and Skjak-Braek 1990). Los carragenatos tienen propiedades similares a los alginatos, y de los tres tipos de carragenatos (lambda, kappa e iota), el tipo kappa es el más apropiado para la inmovilización de células (Van de Velde *et al.*, 2002). El k-carragenato gelifica por la presencia de cationes covalentes como K⁺, Rb⁺, Cs⁺ y NH₄⁺, formando en comparación con el alginato cálcico un gel menos elástico.

En biofiltración, la utilización de esta bacteria en cultivos puros (*Nitrosomonas europaea* ATCC 17718) para la eliminación de amoniaco ha sido estudiada por Chung and Huang (1998) realizando una inmovilización en esferas de alginato de calcio, partiendo de una concentración de 10^5 CFU (g seco)⁻¹. Igualmente, ha sido utilizada por estos mismos autores co-inmovilizada con *Thiobacillus thioparus* CH11 en esferas de alginato calcio a la misma concentración (Chung *et al.*, 2000) y sobre carbón activo (Chung *et al.*, 2007).

4.2.2.3. Adaptación de la biopelícula

En la fase de adaptación de la biopelícula, se eliminó la fuente de sustrato del medio de recirculación, pasando a alimentar amoníaco incorporado en una corriente de aire. El caudal de alimentación se fijó en 120 l h^{-1} , que se corresponde a un tiempo de residencia de 30 segundos. El pH del medio de recirculación fue controlado entre 7,5 y 7,6, siendo el caudal de recirculación de nutrientes de 445 ml min^{-1} .

En la Figura 78 se han representado dos valores del porcentaje de eliminación; por un lado, el porcentaje de eliminación considerando la diferencia entre la concentración de entrada y salida de amoníaco del biofiltro, por otra, el porcentaje de eliminación biológica (Rb).

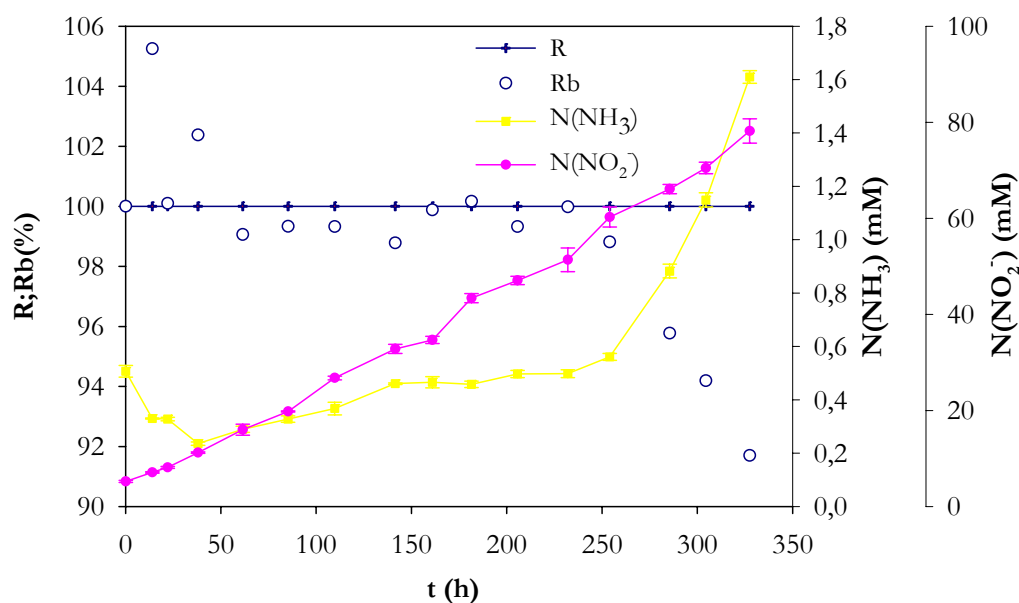


Fig 78. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●). Porcentaje de eliminación (+) y porcentaje de eliminación biológica (○) en la fase de adaptación de la biopelícula

Con la carga de alimentación inicial de $3,38 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (50 ppmv de NH_3) se alcanzó un porcentaje de eliminación del 100% muy rápidamente, por lo que el tiempo de aclimatación fue nulo. En estudios anteriores realizados por Chung and Huang (1998) empleando esta misma cepa no fue necesaria una fase de aclimatación del cultivo, obteniéndose eliminaciones

mayores del 95% desde el primer instante y hasta un 99% en 4 días con concentraciones de entrada de 10 y 20 ppmv. Cuando no se emplean cultivos puros es necesaria una fase de aclimatación, siendo el tiempo necesario para ésta una función del tipo de inóculo empleado. Así Liang *et al.* (2000) necesitaron un periodo de 2 semanas de aclimatación, Gracian *et al.* (2002) de 3 a 4 semanas y Shahmansouri *et al.* (2005) hasta 3 meses.

El incremento de la concentración de amoníaco en el medio provocó una disminución del porcentaje de eliminación biológica y la concentración de nitrito alcanzó una concentración de 78 mM a las 327 h. Esta concentración de nitrito causó el incremento de la concentración de amoníaco en el medio líquido y la consecuente disminución del porcentaje de eliminación biológica hasta un 92%. Es conocido que, tanto el amoníaco en la forma disociada como el nitrito inhiben la nitrificación (Anthonisen *et al.*, 1976).

La concentración de biomasa en suspensión alcanzó valores de $1,25 \cdot 10^9$ células por mililitro de medio a las 141 horas, para posteriormente disminuir hasta un valor constante de $8,8 \cdot 10^8$ células por mililitro (Figura 79). Esta disminución sólo puede tener su explicación por un aumento de la cantidad de biomasa inmovilizada.

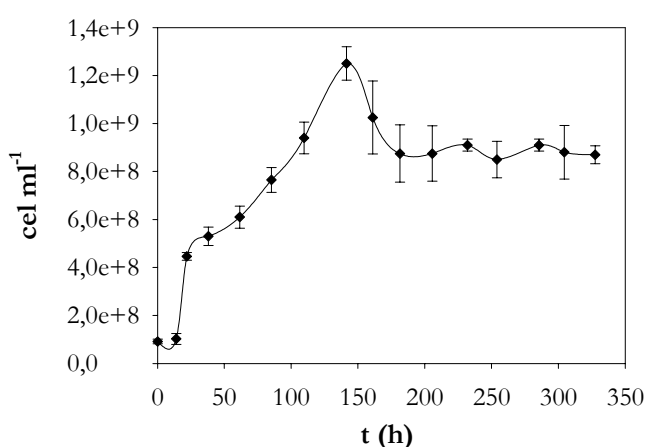


Fig 79. Evolución de la biomasa en suspensión en la fase de adaptación de la biopelícula

Pasadas 327 horas se repuso el medio por medio fresco, para comenzar la siguiente etapa de estudio de la influencia de las variables de operación.

4.2.3. Estudio del efecto de las principales variables de operación sobre la eficacia del proceso en la degradación de NH_3 . Determinación de las capacidades y eficacias de eliminación

4.2.3.1. Estudio del efecto del caudal de recirculación de nutrientes

Para los tres caudales de recirculación ensayados (445, 237 y 83 ml min^{-1} que se corresponden a velocidades superficiales de líquido de 8,57; 4,55 y 1,59 m h^{-1}) no se observó variación alguna de la capacidad de eliminación de amoníaco en el biofiltro; por tanto, puede considerarse que no se trata de una variable a tener en cuenta en el rango de trabajo estudiado.

Son muy pocos los estudios realizados de eliminación de amoníaco mediante el empleo de un biofiltro de escurrimiento, reduciéndose a cuatro los trabajos encontrados (Kanagawa *et al.*, 2004; Melse and Mol 2004; Sakuma *et al.*, 2004; Chou and Wang 2007).

Kanagawa *et al.* (2004) estudiaron el efecto del caudal de recirculación de líquido, encontrando que el mantenimiento de la recirculación es un factor importante, ya que cuando se produce un corte en el suministro se produce un efecto negativo en el funcionamiento del reactor. Al operar con flujos intermitentes (corte de la recirculación durante uno o dos minutos) encuentran una disminución de la actividad del 10%, trabajando con una velocidad superficial durante la operación en continuo de 4,58 m h^{-1} . Describen su reactor como un biofiltro, pero dado que realizan parte de la experimentación con un caudal constante de líquido y puesto que el soporte empleado no es orgánico (cerámica) es más apropiado emplear el nombre de biofiltro de escurrimiento. Sakuma *et al.* (2004) emplearon una velocidad superficial muy baja, de 0,053 m h^{-1} , siendo el soporte empleado también de tipo cerámico. Melse and Mol (2004) utilizaron como soporte tubos de plástico unidos y dispuestos verticalmente, realizando una purga del medio de recirculación para evitar la acumulación de los productos de oxidación; sin embargo, no muestran los datos de caudales empleados. Chou and Wang (2007) sí realizaron un estudio del efecto del caudal de recirculación en un biofiltro de escurrimiento empaquetado con coque, a velocidades superficiales entre 0 y 2,86 m h^{-1} , obteniendo el mayor porcentaje de eliminación para el valor de 1,90 m h^{-1} , aunque la diferencia es mínima cuando la recirculación está activada.

4.2.3.2. Estudio del efecto inhibitorio de la concentración de nitrito

De acuerdo con los estudios publicados, las dos especies químicas que causan la inhibición del metabolismo de *Nitrosomonas europaea* son el amoníaco (NH_3) y el ácido nitroso (HNO_2) (Anthonisen *et al.*, 1976; Sakuma *et al.*, 2004; Baquerizo *et al.*, 2005), aunque otros factores como el aumento de la presión osmótica, debido a altas concentraciones de sales, inhiben su actividad (Hunik *et al.*, 1992). Hunik *et al.* (1992) estudiaron la inhibición debida a la concentración de diversas sales (NH_4^+ , K^+ , Na^+ , NO_3^- y NO_2^-), encontrando una disminución lineal de la actividad respecto a la concentración de sales, sin observar diferencias significativas en función del tipo de compuesto. A partir de estos datos, llegaron a concluir que *Nitrosomonas europaea* presenta una inhibición de su crecimiento con respecto a la concentración total de sales presentes en el medio, que llega a provocar un aumento de la presión osmótica. Al mismo tiempo, encontraron que el nitrito es un compuesto inhibitorio, sobre todo a pH bajos, por lo que sugieren que la forma desionizada (HNO_2) sea la responsable del efecto tóxico (la disminución de la actividad a pH 7,5 es aproximadamente del 50% para 100mM de nitrito). Sin embargo, otros estudios han encontrado los efectos inhibitorios a concentraciones en rango menores, entre 5 y 20 mM (Stein and Arp 1998b), siendo la pérdida de actividad más acusada en condiciones alcalinas (pH 7 a 8) que en condiciones ácidas (pH 5,5 a 6,5).

De igual forma, otros compuestos que pueden estar presentes en la corriente gaseosa pueden disminuir la eliminación como consecuencia de la inhibición o inactivación de la enzima amonio monooxigenasa (AMO). Muchos de estos compuestos pueden ser sustratos alternativos, así encontramos compuestos como el metano (Hyman and Wood 1983), el etileno (Hyman and Wood 1984), hidrocarburos halogenados (Rasche *et al.*, 1990), compuestos aromáticos (Chang *et al.*, 2002), el acetileno, que es un inactivador irreversible (Hyman and Wood 1985; Wrage *et al.*, 2004) u otros compuestos sulfurados como DMS, DMDS, CS_2 y tioéteres (Juliette *et al.*, 1993).

En cualquier medio acuoso, las concentraciones de amoníaco (NH_3) o ión amonio (NH_4^+), así como de nitrito (NO_2^-) o ácido nitroso (HNO_2) dependerán del pH del medio.

Las constantes ácidas de disociación del amoníaco han sido obtenidas por Clegg and Brimblecombe (1989), siendo el $pK_a=9,249$ a 25°C . Estos autores propusieron la siguiente ecuación para obtener los valores de la constante básica de disociación (K_b)

$$\ln(K_b) = a + \frac{b}{T} + c T$$

Donde $a=16,932$; $b=-4411,025$ y $c=-0,0440$ estando T en grados K. Para 30°C , el valor de la constante ácida de disociación sería de 9,259.

Considerando un valor del pK_a de 9,259 para el amoníaco a un pH de 7,5, sólo el 1,712% del amonio total estaría como amoníaco libre disociado.

En cuanto al valor de la constante de disociación del ácido nitroso, el valor más aceptado del pK_a ha sido de 3,27 a 25°C (Park and Lee 1988); sin embargo en la literatura se encuentran valores en el rango de 2,3 a 5,22 (Das Gracias Gomes *et al.*, 1993). Recientemente, Riordan *et al.* (2005) han obtenido un valor de la constante de disociación de 1,7 a 25°C .

Si se considera un valor del pK_a de 3,276 a un pH de 7,5, sólo el 0,006% estaría como ácido nitroso y si fuese el valor del pK_a de 1,7, el porcentaje de ácido nitroso sería tan solo del 0,00016%.

El proceso de oxidación biológica se puede esquematizar según la Figura 80. Inicialmente ocurre una absorción del amoníaco desde la fase gas a la película líquida, cuya velocidad de absorción vendrá determinada por las condiciones hidrodinámicas de la columna, así como, por la constante de Henry de solubilidad, teniendo en cuenta que se trata de un compuesto muy soluble en agua. Una vez absorbido, se establece el equilibrio químico entre el amoníaco y el catión amonio, cuyas concentraciones vienen determinadas por la constante de disociación. La oxidación biológica del amoníaco ocurre fundamentalmente en la biopelícula, aunque también se puede dar en el medio en recirculación en menor medida, ya que al retirar este medio no se produce una disminución de la oxidación biológica. Cuando el amoníaco es oxidado a nitrito se da lugar al equilibrio químico entre el nitrito y el ácido nitroso.

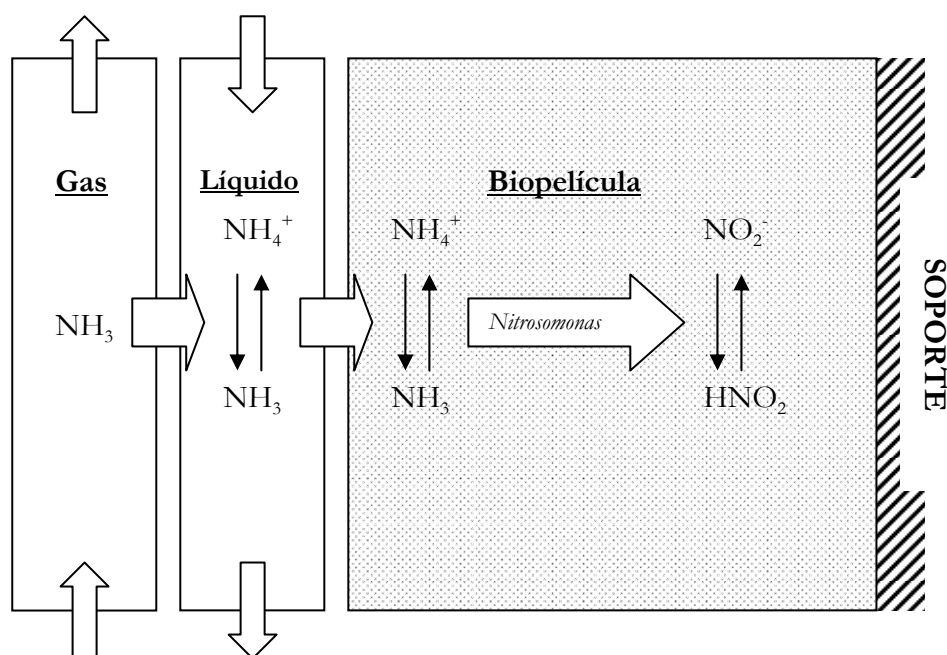


Fig 80. Esquema de degradación de amoníaco por *Nitrosomonas europaea*

Algunos autores han encontrado una proporción 1:1 entre el amoníaco que es metabolizado por el microorganismo y el absorbido como amonio en el medio de recirculación (Smet *et al.*, 2000; Kanagawa *et al.*, 2004; Pagans *et al.*, 2005). La acumulación del amoníaco en el medio líquido es perjudicial para el microorganismo, ya que para cierto rango de concentraciones está demostrada la existencia de inhibición por parte de éste. Por tanto, se debe trabajar en un rango de concentraciones de nitrito que no produzcan inhibición del crecimiento microbiano y la consiguiente acumulación de amoníaco en el medio líquido. Teniendo en cuenta estas premisas, el control de la concentración de nitrito se convierte en un parámetro fundamental en la operación de los sistemas de biofiltración de amoníaco.

Kanagawa *et al.* (2004) encontraron una disminución del 50% de la actividad de las bacterias amonio oxidantes cuando la concentración de nitrito fue de $0,5 \text{ gN l}^{-1}$ ($35,7 \text{ mM N}(\text{NO}_2^-)$); en cuanto al amoníaco no encuentran una inhibición significativa para concentraciones por debajo de 2 gN l^{-1} ($142,8 \text{ mM N}(\text{NH}_3)$), siendo inhibitorio a

concentraciones de 5 gN l⁻¹ (357,1 mM N(NH₃)), con una disminución del 40% de la actividad.

Baquerizo *et al.* (2005) han propuesto dos ecuaciones para calcular las constantes de inhibición por amoníaco libre y ácido nitroso libre de las especies amonio oxidantes y nitrito oxidantes. Para el caso de las bacterias amonio oxidantes las ecuaciones son las siguientes:

$$K_{I,NH_3} = \frac{1}{17} \frac{1}{10^{(pH-pK_a)}} 116 \quad (\text{mM N(NH}_3\text{)})$$

$$K_{I,NO_2} = \frac{1}{47} (10^{(pH-pK_a)}) 0,59 \quad (\text{mM N(NO}_2\text{)})$$

Como se puede observar, estos autores proponen una dependencia de las constantes con respecto al pH, donde conocidos los pKa del amoníaco y del ácido nitroso se pueden calcular las constantes de inhibición. Para el pH de trabajo (7,5), los valores de las constantes son de 392 mM de N(NH₃) y 210 mM de N(NO₂), considerando valores de pKa de 3,276 y 9,259 para el ácido nitroso y el amoníaco, respectivamente. En la ecuación global de consumo de amoníaco propuesta en el modelo, una concentración de nitrito o amoníaco igual a la constante de inhibición supone una reducción del 50% de la velocidad de consumo de amoníaco.

Chou and Wang (2007) encontraron que a partir de una concentración de 10 mg l⁻¹ de amoníaco libre, la especie *Nitrosomonas* sufre inhibición. Una concentración de amoníaco libre de 10 mg l⁻¹, al pH de trabajo medio de este estudio (6,68), supone una concentración de nitrógeno amoniacal total de 223,7 mM de N(NH₃).

Una vez finalizada la etapa de aclimatación y refrescado el medio de recirculación, la siguiente variable estudiada fue el efecto inhibitorio de la concentración de nitrito. En la Figura 81, se han representado las variaciones temporales de las concentraciones de nitrito y amoníaco en el medio de recirculación. El tiempo de residencia del gas fue de 30 segundos, la carga de alimentación de 6,76 gN m⁻³h⁻¹, el caudal de recirculación de 445 ml min⁻¹ y el pH se mantuvo entre 7,5 y 7,6.

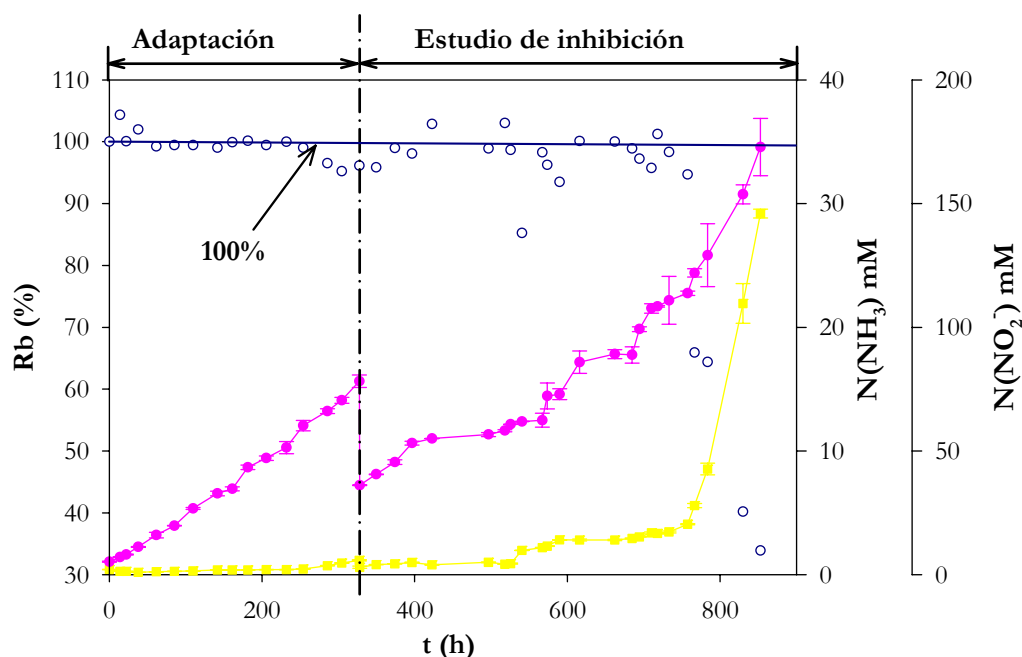


Fig 81. Estudio inhibitorio de la concentración de nitrito. Concentración de amoníaco (■) y nitrito (●). Porcentaje de eliminación biológica (○)

La concentración de amoníaco a la salida del biofiltro fue cero dada la alta solubilidad de éste. En la Figura anterior se ha representado el porcentaje de eliminación biológica, cuyo valor disminuye cuando el amoníaco comienza a acumularse en el medio de recirculación. Para el experimento representado en la Figura, este hecho comienza a notarse para una concentración de 114 mM N(NO₂), y se registró una velocidad de acumulación de amoníaco promedio de 0,278 mM h⁻¹ N(NH₃). Experimentalmente, se llegó hasta un máximo de 173 mM N(NO₂), valor para el cual, el porcentaje de eliminación biológica disminuyó hasta el 34%.

En estudios posteriores, la concentración de nitrito alcanzó valores de hasta 300 mM, y se pudo comprobar que, para valores superiores a 100 mM, la eliminación biológica disminuye como consecuencia del aumento de la concentración de amoníaco en el medio de recirculación. A pesar de esto, durante el tiempo de operación del biofiltro se pudo observar que el microorganismo se fue adaptando a las nuevas condiciones y se registró un descenso menor del porcentaje de eliminación.

Por tanto, para un valor constante del pH a 7,5, la inhibición que se produce al aumentar la concentración de nitrito se puede deber a la concentración total de iones presentes más que a la propia concentración del ácido nitroso.

Según la ecuación propuesta por Hunik *et al.* (1992):

$$\frac{A_I}{A_{I,MAX}} = 0,994 - 0,00187 C_{SALES}$$

Siendo: A_I la actividad de *Nitrosomonas europaea* ($\mu\text{mol O}_2 \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-3}$); $A_{I,MAX}$ la actividad máxima de *Nitrosomonas europaea* ($\mu\text{mol O}_2 \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-3}$) y C_{SALES} la concentración total de sales (mM), las disminuciones de actividad serían del 77% y 61%, teniendo en cuenta la suma de las concentraciones de amoníaco y nitrito.

4.2.3.3. Estudio del efecto del pH

El control del pH es fundamental para obtener resultados satisfactorios en el tratamiento de efluentes gaseosos contaminados con amoníaco. Las bacterias amonio oxidantes y nitrito oxidantes tienen un óptimo de 7,0-8,0 y 6,5-8,5, respectivamente (Yani *et al.*, 1998a). Hunik *et al.* (1992) encontraron que para la especie *Nitrosomonas europaea* se alcanza la máxima actividad biológica para valores de pH entre 7,5 y 8,5.

La carga de alimentación se mantuvo constante en $6,10 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$, siendo la concentración de entrada de 90 ppmv de NH_3 y el tiempo de residencia de 30 segundos. La concentración de nitrito se mantuvo por debajo de $100 \text{ mM N}(\text{NO}_2)$ para evitar fenómenos de inhibición.

En la Figura 82 se representa la evolución de las concentraciones de nitrito y amoníaco en el medio de recirculación, así como el pH en función del tiempo de operación.

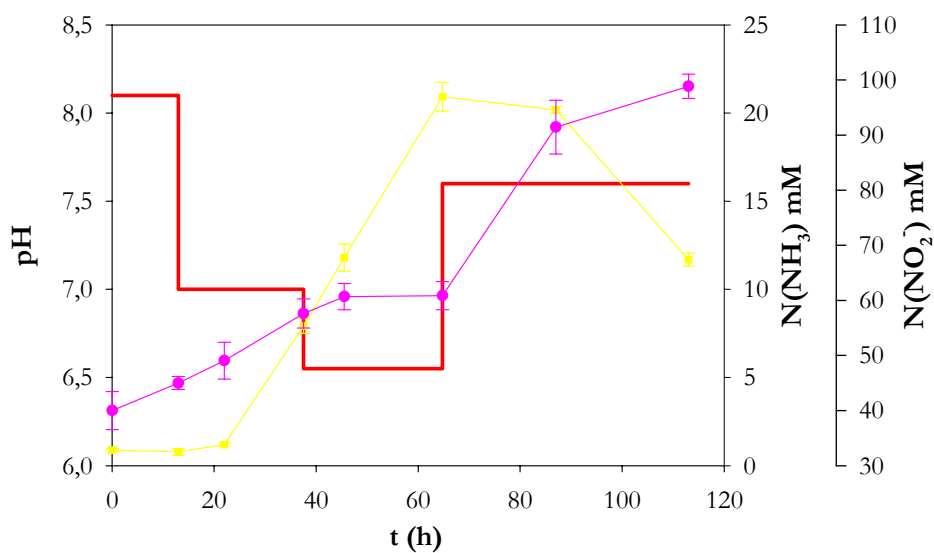


Fig 82. Estudio del efecto del pH. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●) frente a tiempo

Para estudiar como afecta el pH a la eliminación, es necesario diferenciar entre los dos tipos de porcentajes de eliminación. En la Figura 83, se han representado ambos valores.

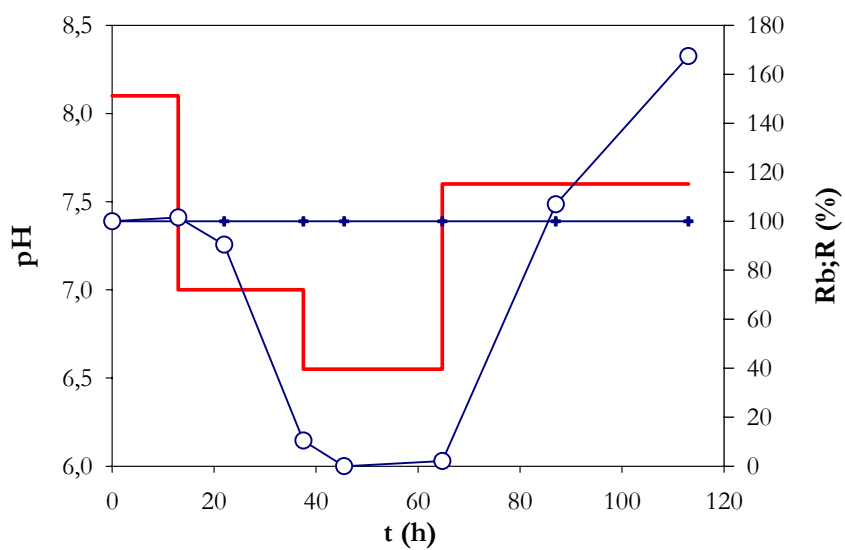


Fig 83. Estudio del efecto del pH. Porcentaje de eliminación (+) y porcentaje de eliminación biológica (○) frente a tiempo

Como puede observarse el porcentaje de eliminación de calculado considerando las concentraciones de entrada y salida del biofiltro se mantiene en el 100%, pero la eliminación biológica es mucho menor para valores de pH entre 7,0 y 6,5, llegando a ser nulo. A un pH de 6,5, se produce una absorción del amoníaco en el medio líquido, hecho éste que se puede comprobar por el mantenimiento de la concentración de nitrito en el medio de recirculación.

Durante la oxidación del amoníaco se liberan protones que provocan la acidificación del medio, esta bajada del pH tiene como consecuencia una disminución de la concentración de amoníaco, un aumento de la concentración de ión amonio y disminución de la concentración de sustrato disponible. Se ha de tener en cuenta que la especie *Nitrosomonas europaea* emplea como sustrato el amoníaco libre pero no puede oxidar el ión amonio (Suzuki *et al.*, 1974).

Durante el periodo que se mantuvo el pH a 6,5, la concentración de amoníaco total en el medio líquido aumentó desde 7,92 a 20,93 mM N(NH₃), que se corresponde con concentraciones de amoníaco libre de 0,234 y 0,619 mg l⁻¹ de NH₃ (sólo el 0,174% del nitrógeno amoniacal total). La concentración de nitrito se mantuvo constante en 61 mM N(NO₂⁻), que se corresponde con una concentración de ácido nitroso de 1,71 mg l⁻¹ de HNO₂ y 2804 mg l⁻¹ de NO₂⁻, considerando un pKa de 3,276. En la siguiente Tabla se comparan los valores de las concentraciones de cada especie a pH de 6,5 y 7,5.

pKa	mM N(NH ₃)	pH	NH ₃ mg l ⁻¹	NH ₄ ⁺ mg l ⁻¹
9,259	7,92	6,5	0,234	142
		7,5	2,305	140
	20,93	6,5	0,619	376
		7,5	6,091	370
pKa	mM N(NO ₂)	pH	NO ₂ mg l ⁻¹	HNO ₂ mg l ⁻¹
3,276	61	6,5	2804	1,71
		7,5	2806	0,171
1,7		6,5	2086	0,045
		7,5	2806	0,005

Tabla 37. Valores de concentración de las especies disociadas a pH de 6,5 y 7,5

Un incremento de una unidad de pH equivale a un aumento de 10 veces en la concentración de amoníaco y una disminución de 10 veces de la concentración de ácido nítrico.

Por tanto, a la vista de los resultados obtenidos, se puede concluir que el pH óptimo de trabajo es de 7,5 y que su control es fundamental en el proceso de eliminación de NH_3 . Este valor de pH es el mismo obtenido por Chung and Huang (1998), que habían trabajado con esta misma bacteria inmovilizada en esferas de alginato de calcio.

4.2.3.4. Estudio del efecto de la carga de alimentación

Para minimizar los posibles efectos de transferencia de materia del amoníaco, se trabajó con un tiempo de residencia muy alto (150 segundos) al objeto de determinar el máximo de degradación biológica. El pH se mantuvo entre 7,5 y 7,6 y el caudal de recirculación de nutrientes fue constante de 445 ml min^{-1} .

En la Figura 84 se han representado las variaciones temporales de las concentraciones de amoníaco y nítrico en el medio de recirculación, así como de la carga de alimentación y de los porcentajes de eliminación.

Se comenzó con una carga de alimentación de $0,89 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y mediante 5 incrementos se alcanzó un valor máximo de $21,7 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$, rango éste que abarca concentraciones desde 60 hasta 1600 ppmv.

El porcentaje de eliminación se mantuvo en el 100%, siendo el porcentaje de eliminación biológica el que presentó algunas fluctuaciones. En cualquier caso, se alcanzó para todas las cargas de trabajo, una vez establecido el estado estacionario, un porcentaje de eliminación biológica mayor del 100% (momento en que se produce una disminución de la concentración de amoníaco en el medio de recirculación). La concentración de nítrico no superó la concentración de 150 mM. En el estudio de inhibición de nítrico discutido anteriormente, para 114 mM de nítrico se producía una acumulación de amoníaco en el medio de recirculación; en este caso, aún siendo mayor no disminuye la eliminación biológica, lo que indica que la cepa se puede ir adaptando progresivamente a concentraciones cada vez más altas de nítrico.

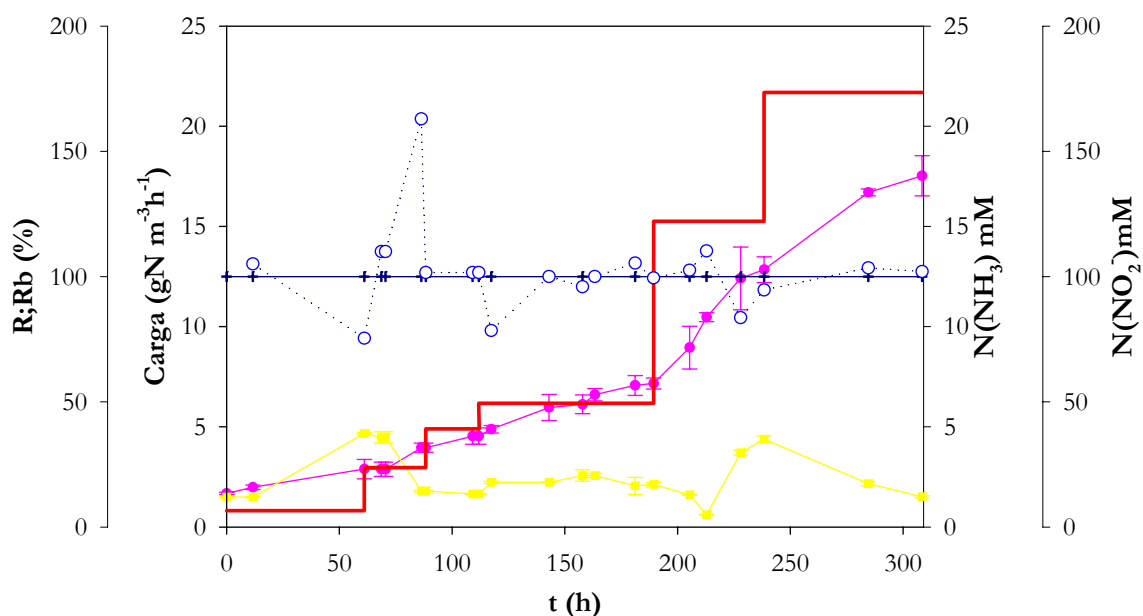


Fig 84. Efecto de la carga. Variación de las concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●); carga (—) y porcentajes de eliminación (+) y eliminación biológica (○)

Como se ha comentado anteriormente, la mayoría de los estudios realizados de eliminación de amoníaco emplean biofiltros, siendo para éstos las capacidades máximas de eliminación muy inferiores a las obtenidas mediante biofiltros de escurrimiento. El valor máximo de la capacidad de eliminación para un biofiltro de escurrimiento fue obtenido por Kanagawa *et al.* (2004) 59,88 gN m⁻³h⁻¹ con un porcentaje de eliminación del 99,8%.

4.2.3.5. Estudio del efecto del tiempo de residencia

Para estudiar el efecto del tiempo de residencia, se empleó una carga de 8,0 gN m⁻³h⁻¹, ensayándose tiempos de residencia del gas desde 150 hasta 5 segundos. El rango de concentraciones de NH₃ fue desde 20 a 592 ppmv de NH₃.

En la Figura 85 se han representado las variaciones de las concentraciones de nitrito y amoníaco en el medio de recirculación, así como los valores de los porcentajes de eliminación para cada tiempo de residencia del gas, en función del tiempo de operación.

Para todos los tiempos de residencia ensayados, se alcanzó un porcentaje de eliminación del 100% y, una vez alcanzado el estado estacionario, el porcentaje de eliminación biológica fue mayor del 100%. Para evitar fenómenos de inhibición por la concentración de nitrito, se realizó una reposición del medio de recirculación a las 143 horas de operación.

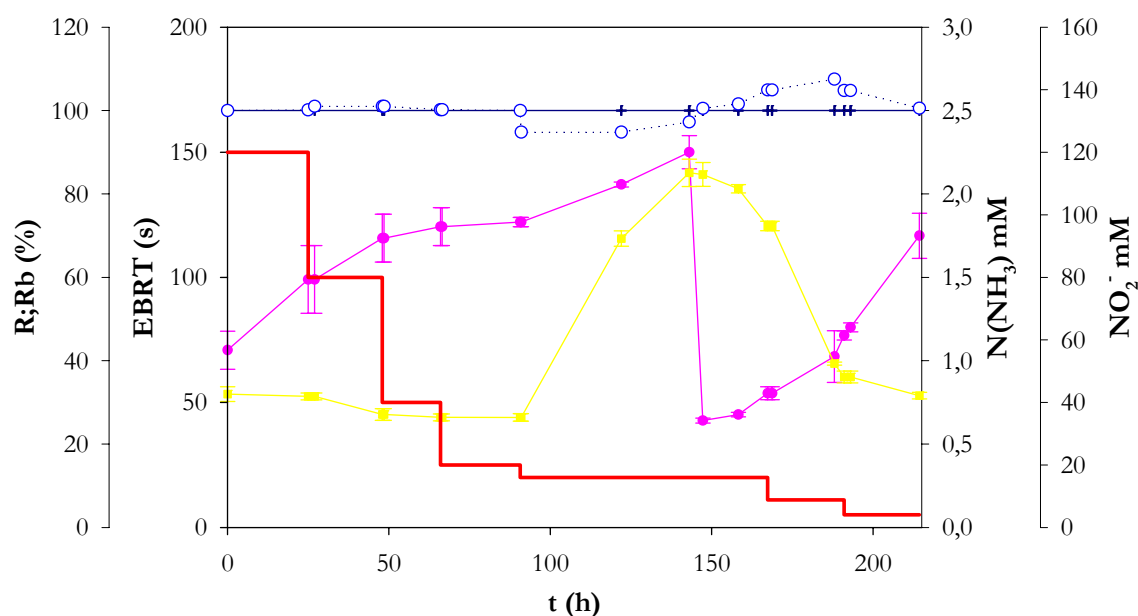


Fig 85. Efecto del tiempo de residencia. Variación de las concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●); EBRT (—) y porcentajes de eliminación (+) y eliminación biológica (○)

En los estudios realizados sobre el efecto del tiempo de residencia, Liang *et al.* (2000) encontraron que una disminución del tiempo de residencia del gas no produce una disminución significativa de la eliminación. En la mayoría de los estudios realizados con biofiltros, los autores encuentran una disminución de la eliminación al disminuir el tiempo de residencia, así Chung *et al.* (1997b) observaron una disminución del 97% al 67% al pasar de un tiempo de residencia de 70 a 12 segundos, justificando esta disminución por problemas de transferencia de materia del amoníaco de la fase gas a la líquida. En los trabajos realizados con biofiltros de escurrimiento este problema de transferencia de materia se ve minimizado, tal y como muestran los resultados experimentales obtenidos, siendo el amoníaco absorbido en su

totalidad en el medio líquido de recirculación. Al igual que en nuestro caso, Chou and Wang (2007) han estudiado el efecto del tiempo de residencia del gas con valores desde 236 a 30 segundos, siendo el porcentaje de eliminación del 99% y del 96%, para los tiempos de 59 y 30 segundos respectivamente. Por tanto, queda demostrado que el empleo de un biofiltro de escurrimiento es mucho más apropiado para el tratamiento de efluentes gaseosos contaminados con amoníaco, puesto que se mejora la transferencia de materia de la fase gas a la líquida siendo poco acusado el efecto del tiempo de residencia del gas.

Debido a que a todos los tiempos de residencia se obtuvo un porcentaje de eliminación del 100% para la carga de trabajo empleada, se programó una experiencia manteniendo un tiempo de residencia del gas fijo de 11 segundos, con objeto de determinar en que momento la eliminación puede estar por debajo del 100%. Para ello, se fue aumentando progresivamente la carga de alimentación desde 24,7 hasta 270 gN m⁻³h⁻¹, cargas que abarcan un rango de concentraciones de entrada de 134 a 1464 ppmv, rango éste suficientemente amplio como para poder tratar efluentes provenientes de plantas de compostaje (Haug 1993; Smet *et al.*, 2000) y de plantas fertilizantes donde se alcanzan concentraciones mayores de 1000 ppmv (Williams and Miller 1992).

Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 86. El porcentaje de eliminación fue del 100% en todo momento dada la alta solubilidad del amoníaco en el medio de recirculación. El porcentaje de eliminación biológica se situó por encima del 100% para cada carga, cuando la concentración de nitrito se mantuvo por debajo de 100 mM. Para concentraciones por encima de 100 mM, la eliminación disminuye y se registra un aumento del amoníaco en el medio líquido.

Esta eliminación se recupera al sustituir el medio de recirculación por medio fresco y, por tanto, disminuir la concentración de nitrito en el medio. Cuando las cargas son altas, la velocidad de generación de nitrito es muy alta, y por tanto se alcanzan en breve espacio de tiempo los niveles de inhibición, produciéndose una disminución de la eliminación biológica. La acumulación de nitrito se podría evitar con un sistema de purga y alimentación continua del medio, que sería necesario implementar al biofiltro.

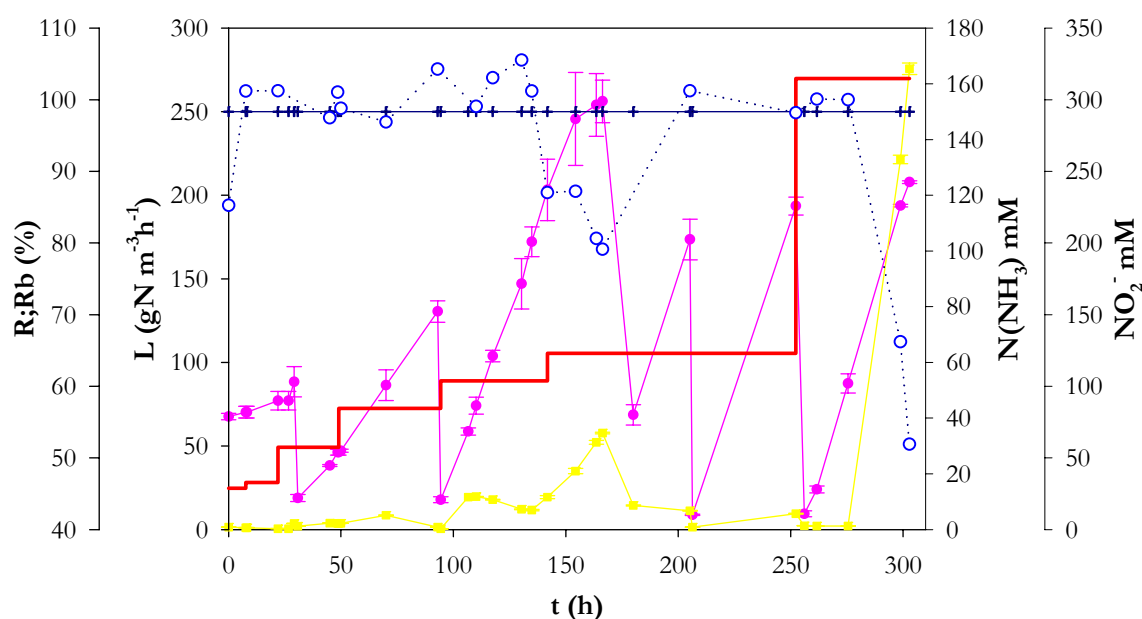


Fig 86. Efecto de la carga. Variación de las concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●); Carga (—) y porcentajes de eliminación (+) y eliminación biológica (○).EBRT 11 seg

La capacidad de eliminación crítica alcanzada fue de 270 gN m⁻³h⁻¹, para un tiempo de residencia del gas de 11 segundos, para concentraciones de nitrito menores de 100 mM. Éste valor supera 4,5 veces el valor máximo encontrado en estudios anteriores (Kanagawa *et al.*, 2004).

4.2.3.6. Estudio del efecto de la pérdida de carga

Al igual que en el estudio de eliminación de H₂S, se evaluó la pérdida de carga para cada tiempo de residencia del gas.

La pérdida de carga por metro de columna fue muy pequeña siendo para los tiempos de residencia del gas de 11 y 5 segundos de 6,2 y 25,9 cm de agua por metro de columna. En la Figura 87 se ha representado la pérdida de carga por metro de altura de columna frente a la velocidad superficial del gas, correspondiente a los tiempos de residencia de 150, 100, 50, 25, 20, 11 y 5 segundos.

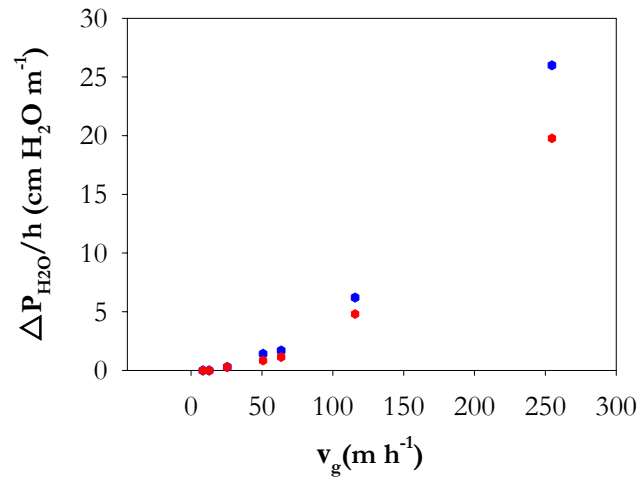


Fig 87. Pérdida de carga por metro de columna frente a velocidad superficial del gas. ● BTF con biomasa inmovilizada; ● BTF sin biomasa.

Al igual que en el estudio de eliminación de H₂S se ha utilizado la ecuación de Ergun, agrupando los términos de su ecuación en dos constantes alfa y beta, para analizar los datos obtenidos (Ergun 1952; Ramirez *et al.*, 2003):

$$\frac{\Delta P}{h v_g} = \alpha + \beta v_g$$

En la Figura 88 se han representado las linealizaciones de la ecuación anterior para el BTF con y sin biomasa.

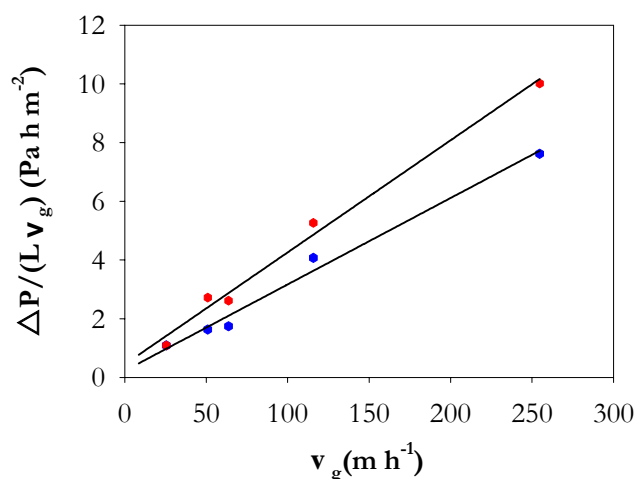


Fig 88. Obtención de los parámetros de la ecuación de Ergun. ♦ BTF con biomasa inmovilizada; ♦ BTF sin biomasa

En la Tabla 38 se exponen los valores alfa y beta así como los coeficientes de regresión lineal de cada ajuste (r^2).

	Con biomasa	Sin biomasa	
α	1,7507	1,6952	Pa h m ⁻²
β	0,0331	0,0254	Pa h ² m ⁻³
r^2	0,9846	0,9408	

Tabla 38. Parámetros de la ecuación de Ergun

Estos datos apenas difieren de los valores obtenidos en el estudio de la pérdida de carga en el biofiltro de eliminación de amoníaco, siendo tan solo algo mayor el valor alfa correspondiente a la ordenada en el origen. El valor más alto de alfa se podría justificar porque en este caso tenemos un caudal de recirculación del medio líquido mayor y por tanto la resistencia al paso del gas va a ser más alta. Para cada caudal de líquido tendríamos unos valores de las constantes alfa y beta de la ecuación, puesto que la ecuación de Ergun sólo contempla el movimiento de una fase fluida (Ergun 1952). Los valores obtenidos son, al igual que en el estudio del biofiltro de eliminación de H₂S, mucho menores que los obtenidos con otros soportes (Ramírez *et al.*, 2003).

4.3. ELIMINACIÓN CONJUNTA DE MEZCLAS $\text{H}_2\text{S}/\text{NH}_3$ EN AIRE

4.3.1. Estudio del desarrollo de biopelículas mixtas

Para esta primera fase de estudio, se formuló un medio mixto de crecimiento que cumpliera los requerimientos mínimos necesarios para ambas especies microbianas. De esta forma, se formuló un medio con el 50% de la concentración de tiosulfato utilizada en el medio ATTC290 y una concentración de 30 mM de amoníaco (ver composición detallada en el apartado Material y Métodos de esta memoria).

En la Figura 89 se ha representado la evolución temporal del pH, las concentraciones de tiosulfato, sulfato, azufre (calculada mediante balance de materia) y biomasa total.

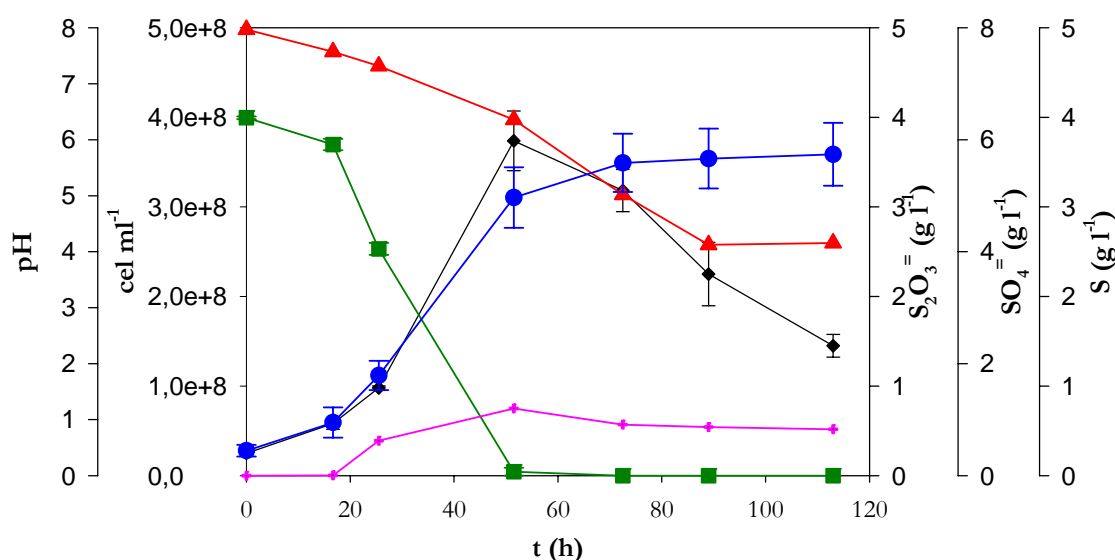


Fig 89. Cinética *Thiobacillus thioparus* en medio mixto. Concentraciones de biomasa (◆); tiosulfato (■), sulfato (●) azufre (+) y pH (▲)

La concentración de biomasa inicial fue de $2,5 \cdot 10^7 \text{ cel ml}^{-1}$ y el pH evolucionó desde 8,0 hasta 4,1. Puede observarse que, a las 50 horas se alcanza el máximo de crecimiento ($3,7 \cdot 10^8 \text{ cel ml}^{-1}$) y el agotamiento del sustrato. Para calcular las velocidades de consumo de tiosulfato y producción de sulfato se ha supuesto una variación lineal de la concentración en la fase exponencial de crecimiento, obteniéndose una velocidad de consumo de tiosulfato de 0,103

$\text{gl}^{-1}\text{h}^{-1}$ y de producción de sulfato de $0,117 \text{ g l}^{-1}\text{h}^{-1}$. Los coeficientes de regresión (r^2) fueron de 0,995 y 0,998, respectivamente.

La velocidad específica máxima de crecimiento se puede obtener representando el logaritmo neperiano del cociente entre la concentración de biomasa en cada instante y la concentración de biomasa inicial frente al tiempo (Figura 90). De esta forma, se obtuvo una velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}) de $0,0526 \text{ h}^{-1}$, con un coeficiente de regresión lineal (r^2) de 0,9996. Este valor representa la mitad del obtenido con el medio de la ATCC ($0,0971 \text{ h}^{-1}$).

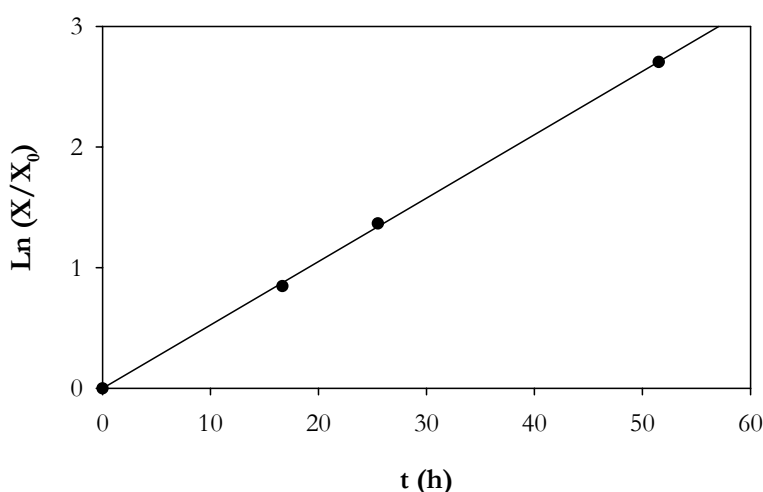


Fig 90. Cálculo de la velocidad específica máxima de crecimiento de *Thiobacillus thioparus* en medio mixto

Para la cepa de *Nitrosomonas europaea* no se obtuvo ningún crecimiento, por lo que no se considera adecuado el uso de este medio mixto para el crecimiento de ambas especies bacterianas. La ausencia de crecimiento por parte de esta bacteria puede deberse a la presencia de iones sodio en el medio, que aporta el tiosulfato necesario para el crecimiento de *Thiobacillus thioparus*, que provoca un aumento de la presión osmótica con la consiguiente disminución de la actividad de *Nitrosomonas europaea* (Hunik *et al.*, 1992).

4.3.2. Eliminación en dos etapas en serie

Desde el punto de vista ingenieril, el objetivo general en cualquier proceso es obtener el máximo de rendimiento con el menor coste posible. En este sentido, la gran mayoría de los estudios realizados para el tratamiento de efluentes gaseosos contaminados con NH_3 y H_2S , han empleado biofiltros en una única etapa con cultivos mixtos de bacterias amonio y azufre oxidantes.

En la mayoría de estos estudios de eliminación conjunta, se han encontrado fenómenos de inhibición de la actividad metabólica de las bacterias amonio oxidantes por la presencia de H_2S (2000; Chung *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2002a; Lee *et al.*, 2002; Malhautier *et al.*, 2003a; Chung *et al.*, 2005). Para evitar este inconveniente, se hace necesario disponer de un sistema de biofiltración en serie en dos etapas, empleando una cepa inmovilizada en cada uno de ellas.

En los estudios realizados por Chung *et al.* (2007) estudian un sistema con un primer biofiltro con *Thiobacillus thioparus* y un segundo biofiltro con *Nitrosomonas europaea*, ya que el objetivo es eliminar el H_2S , para que éste no inhiba la eliminación de NH_3 en el segundo biofiltro. En nuestro caso, esta disposición no es válida, puesto que al tener un biofiltro de escurrimiento con un alto caudal líquido de recirculación, si el primer biofiltro fuese el de eliminación de H_2S en el se absorbería todo el amoníaco dada su alta solubilidad en agua.

Cada biofiltro se ha alimentado con su propio medio de recirculación, el tiempo de residencia del gas fue de 60 segundos, la carga de alimentación de amoníaco fue de $10 \text{ gNm}^{-3}\text{h}^{-1}$ (296 ppmv), el pH se mantuvo entre 7,4-7,5 en el biofiltro con *Thiobacillus thioparus* (BTT) y entre 7,5 y 7,6 para el biofiltro con *Nitrosomonas europaea* (BNE). La carga de ácido sulfhídrico se fue aumentando progresivamente desde 2,89 hasta $15,82 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$, rango que abarca valores de concentración desde 37,5 hasta 204,7 ppmv.

En la Figura 91, se ha representado la variación respecto del tiempo de las cargas de alimentación, así como, de las concentraciones de amoníaco, nitrito y sulfuro total en el medio de recirculación; los porcentajes de eliminación y eliminación biológica para el amoníaco y el ácido sulfhídrico en el primer biofiltro (BNE).

La concentración de sulfuro total representa la suma de las 3 especies que se forman al absorberse el H_2S en la fase líquida. Para un pH de 7,5 en el medio líquido, el 73,4% del total se encuentra como HS^- , el 24,3% como H_2S y sólo el 0,003% como $\text{S}^{=}$.

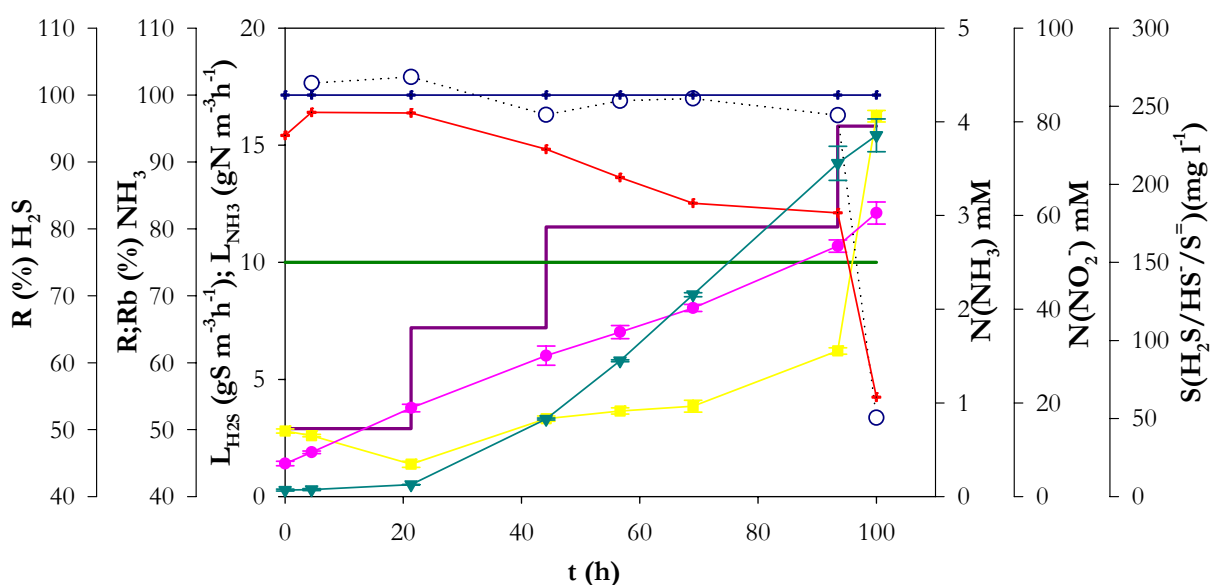


Fig 91. Eliminación en serie (BNE). Carga de amoníaco (—); carga de ácido sulfhídrico (—); concentraciones de amoníaco (■); nitrito (●) y sulfuro total (▼); porcentaje de eliminación de amoníaco (+); porcentaje de eliminación biológica de amoníaco (○) y porcentaje de eliminación de H_2S (+)

No se ha representado la evolución de la concentración de sulfato puesto que en este primer biofiltro no hay bacterias azufre oxidantes y, por tanto, el ácido sulfhídrico no puede ser oxidado. A pesar de ello, la eliminación alcanzada respecto al H_2S fue bastante alta, y se pensó en una posible contaminación del biofiltro por bacterias azufre oxidantes. Por tanto, se realizaron medidas de la concentración de sulfato en el medio líquido que resultaron negativas. De ahí que la única posibilidad para la eliminación del ácido sulfhídrico se deba a una absorción, favorecida por el pH de trabajo por encima del $\text{pK}_{\text{a}1}$ (7,02). Se observa además, que al aumentar la carga de H_2S , el porcentaje de eliminación de este compuesto disminuye hasta un 54,8%, aumentando linealmente la concentración de sulfuro en el medio líquido.

Se puede observar que no se detecta amoníaco a la salida del primer biofiltro, por tanto, la eliminación de amoníaco fue siempre del 100%. A pesar de ello, la eliminación biológica no fue siempre del 100% para el rango de valores estudiados, aunque si se alcanzaron valores por encima del 99% para cargas de H_2S iguales o menores de $11,5 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$. Cabe resaltar que para el último valor de la carga de alimentación de ácido sulfhídrico ensayada, la eliminación biológica de amoníaco disminuyó bruscamente hasta alcanzar un 52%. Este efecto sobre la eliminación de amoníaco como consecuencia del aumento de la carga de H_2S ha sido observado por otros autores; así, Chung *et al.* (2000; 2001) encontraron fenómenos de inhibición a partir de 120 ppmv de H_2S ; Kim *et al.* (2002a) observaron que la disminución en la eliminación de NH_3 se produce para concentraciones de H_2S mayores de 200 ppmv.

La caída del porcentaje de eliminación de amoníaco ocurre cuando tenemos una concentración de H_2S en la fase gas de 204,7 ppmv. En función de la solubilidad del H_2S y de las condiciones hidrodinámicas de la columna tendremos una concentración de H_2S en la fase líquida, la cual se disocia en función del pH en HS^- y $\text{S}^{=}$. La concentración de sulfuro total en el medio líquido fue de $231,4 \text{ mgS l}^{-1}$, concentración 100 veces mayor a la teórica que se alcanzaría en un sistema agua/aire- H_2S . Para una concentración en fase gas de 204,7 ppmv las concentraciones en equilibrio con fase acuosa serían de $0,64 \text{ mg l}^{-1}$ de H_2S , $1,91 \text{ mg l}^{-1}$ de HS^- y $6,65 \cdot 10^{-5} \text{ mg l}^{-1}$ de $\text{S}^{=}$, lo que supone una concentración total de $2,45 \text{ mgS l}^{-1}$. Las concentraciones anteriores de equilibrio son para un sistema ideal cerrado agua/aire- H_2S ; en nuestro caso tenemos un medio líquido compuesto por una gran cantidad de sales, por lo que la acumulación se ha de deber a una reacción con el sodio presente en las sales del medio y del bicarbonato de sodio empleado para el control de pH, formándose NaSH.

Este efecto inhibitorio de la oxidación del amoníaco por la presencia de ácido sulfhídrico ha sido encontrado por varios autores. Así, Beccari *et al.* (1980) encontraron que la velocidad de nitrificación se reduce en un 28%, 67% y 76%, respectivamente, para concentraciones de sulfuro de 1, 5 y 10 mgS l^{-1} . Bentzen *et al.* (1995) estudiaron el efecto de la adición de nitrato para prevenir la formación de H_2S , encontrando un aumento del 10% de la actividad nitrificante cuando se reduce la concentración desde 5,5 a 2 mgS l^{-1} . Aesøy *et al.* (1998) observaron que se produce una inhibición en la velocidad de nitrificación cuando la

concentración de sulfuro es de 0,5 mg l⁻¹. Todos estos estudios se han realizado para el tratamiento de aguas residuales, pero no hay ninguno referido al caso del tratamiento de gases contaminados por ambas especies.

En nuestro caso, la concentración de sulfuro total (suma de las tres especies) es muy alta con respecto a los datos anteriores, siendo de 231,4 mgS l⁻¹, y además, en este estudio se dispone de un cultivo puro de bacterias amonio oxidantes y en los estudios anteriores se han utilizado cultivos mixtos con efluentes líquidos provenientes de aguas residuales, donde coexisten gran cantidad de compuestos. Así, un factor importante a tener en cuenta es que la inhibición por la presencia de sulfuro va a depender de la composición de la biomasa, del grado de aclimatación, de la concentración de H₂S, así como, del contenido de materia orgánica e inorgánica (Æsøy *et al.*, 1998). Lo que sí es indiscutible es su efecto inhibitor, que en nuestro caso, provoca una brusca disminución a partir de los 213 mgS l⁻¹, disminuyendo el porcentaje de eliminación biológica de NH₃ del 97% al 52%.

La corriente gaseosa a la salida del BNE pasó a ser la alimentación del siguiente biofiltro (BT^{II}), llegando a éste una corriente con ausencia de amoniaco y con el resto del ácido sulfhídrico que no fue absorbido en el BNE.

En la Figura 92 se ha representado la carga de entrada de ácido sulfhídrico, las evoluciones temporales de las concentraciones de amoniaco y sulfato, así como, el porcentaje de eliminación de ácido sulfhídrico.

Se puede observar que al poco tiempo de comenzar la alimentación se produjo una disminución de la concentración de amoniaco en el medio de recirculación. Esta disminución se puede deber a la contaminación del BT^{II} por bacterias procedentes del primer biofiltro, ya que la corriente gaseosa de salida del BNE contiene bacterias. Esta hipótesis no pudo confirmarse debido a que las concentraciones de nitrito estuvieron siempre por debajo del límite de detección de la técnica analítica empleada.

En cuanto a la concentración de sulfato, ésta fue aumentando debido a la oxidación del H₂S en el biofiltro. Como consecuencia del aumento de la carga de H₂S en el BNE se produjo un incremento de la carga a la entrada del BT^{II}. Se puede observar que para las cargas más

pequeñas, el porcentaje de eliminación se situó sobre el 60%, alcanzándose valores próximos al 100% para las dos últimas cargas de alimentación

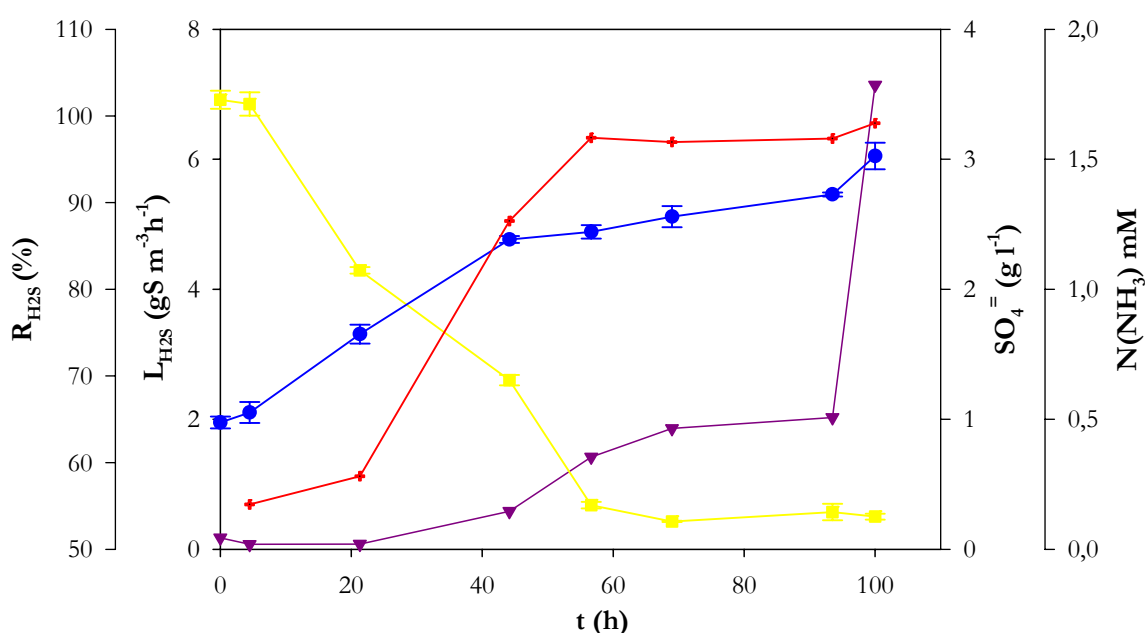


Fig 92. Eliminación en serie (BTT). Carga de ácido sulfhídrico (\blacktriangledown); concentraciones de sulfato (\bullet) y amoníaco (\blacksquare); porcentaje de eliminación de ácido sulfhídrico ($+$)

Esta configuración de los biofiltros es poco eficiente dado que, como se ha comentado anteriormente, el ácido sulfhídrico se absorbe en el primer biofiltro, lo que impide su eliminación biológica y, ocasionando un importante efecto inhibitorio de las bacterias amonio oxidantes, como consecuencia del aumento de la concentración de sulfuro total en el medio de recirculación. Por tanto, una posible solución sería trabajar en el primer biofiltro a un pH por debajo del pK_{a1} , así se evitaría la absorción del ácido sulfhídrico por desplazamiento del equilibrio, pero al mismo tiempo, se dificultaría la eliminación de amoníaco, dado que está altamente influenciada por los valores de pH (Anthonisen *et al.*, 1976; Hunik *et al.*, 1992; Sakuma *et al.*, 2004; Baquerizo *et al.*, 2005).

4.3.3. Eliminación en serie co-inmovilizando ambos microorganismos

Para poder solucionar los problemas encontrados en los experimentos anteriores se puede pensar en una co-inmovilización de ambos microorganismos, con el objetivo de evitar la acumulación del ácido sulfhídrico.

La co-inmovilización de ambas especies bacterianas se llevó a cabo eliminando uno de los depósitos de recirculación de nutrientes, dejando uno sólo con un medio común para ambos biofiltros, con un 50% de los dos tipos de medio (ATCC 290 y ATCC #2265). La alimentación de la corriente gaseosa a tratar continuó realizándose con ambos biofiltros en serie, primero el BNE y, a continuación, el BTT. En la Figura 93 se expone una foto del sistema de eliminación en serie mediante la co-inmovilización de ambos microorganismos.

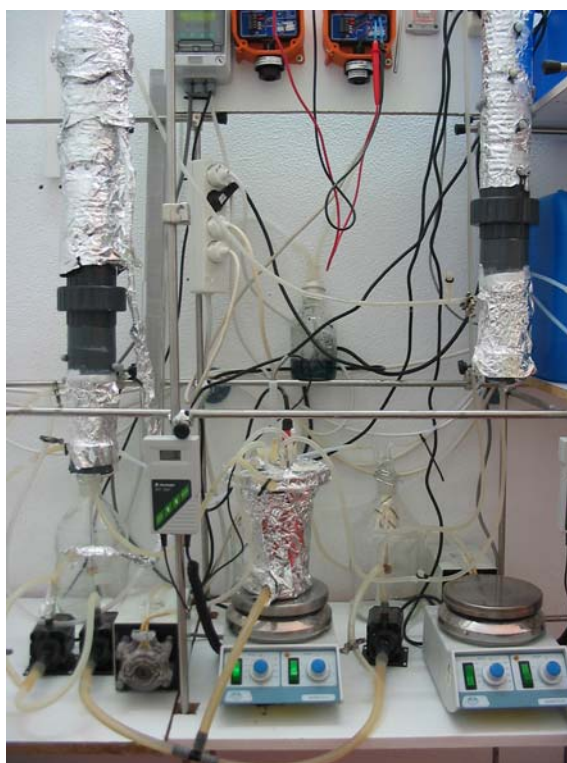


Fig 93. Fotografía del sistema de eliminación conjunta en serie (co-inmovilización)

Como puede verse, se dispone de un medio de recirculación común para ambos BTF y se ha protegido de la luz el segundo biofiltro para permitir la colonización del biofiltro por *Nitrosomonas europaea*.

Se trabajó en un rango de cargas de 2,89 a 7,19 $\text{gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (37,5 a 92,9 ppmv) para el H_2S y desde 1,24 hasta 10,00 $\text{gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (36,7 a 296 ppmv) para el NH_3 , con un tiempo de residencia del gas de 60 segundos. El pH del medio de recirculación se mantuvo entre 7,5 y 7,6.

Los experimentos realizados fueron los siguientes (Tabla 39):

		Carga NH_3 ($\text{gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$)			
		1,24	2,50	5,00	10,00
Carga H_2S $\text{gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$	2,89	X	X	X	X
	5,04		X		
	7,19		X	X	

Tabla 39. Pares de cargas de alimentación. Eliminación en serie (co-inmovilización)

En la Figura 94 se ha representado la evolución de las cargas en función del tiempo de operación.

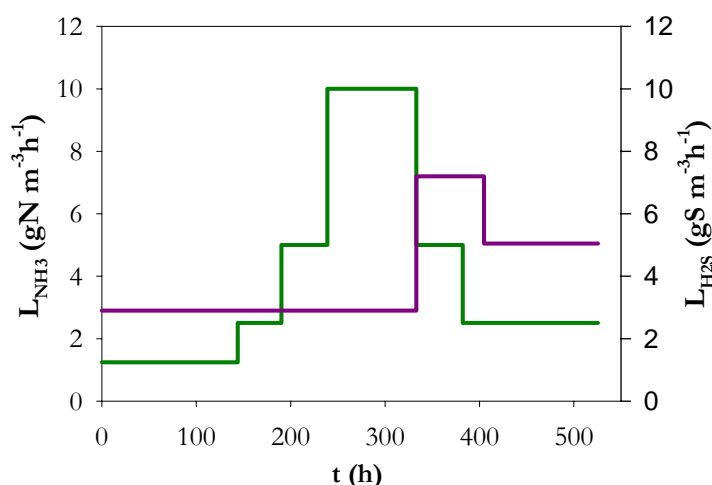


Fig 94. Serie co-inmovilización (BNE). Carga de amoníaco (—); carga de ácido sulfhídrico (—) frente al tiempo

Como se puede observar, se comenzó con una carga constante de H_2S de 2,89 $\text{gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (37,4 ppmv H_2S) y se fue aumentando la carga de NH_3 . A continuación, se aumentó la carga de

H₂S hasta 7,19 gS m⁻³h⁻¹ (93,0 ppmv de H₂S), para una carga intermedia de NH₃ de 5,00 y 2,50 gN m⁻³h⁻¹ (147,9 y 73,9 ppmv de NH₃, respectivamente). Posteriormente, se disminuyó la carga de H₂S a 5,00 gS m⁻³h⁻¹ (64,7 ppmv de H₂S), para una carga de NH₃ de 2,5 gN m⁻³h⁻¹ (73,9 ppmv de NH₃). De todas las etapas, la inicial fue la más larga (144 h) para conseguir una buena adaptación de las bacterias a las nuevas condiciones de operación.

En las Figuras 95 y 96 se ha representado la evolución temporal de las concentraciones de los productos de oxidación, así como la acumulación de sustrato en el medio de recirculación.

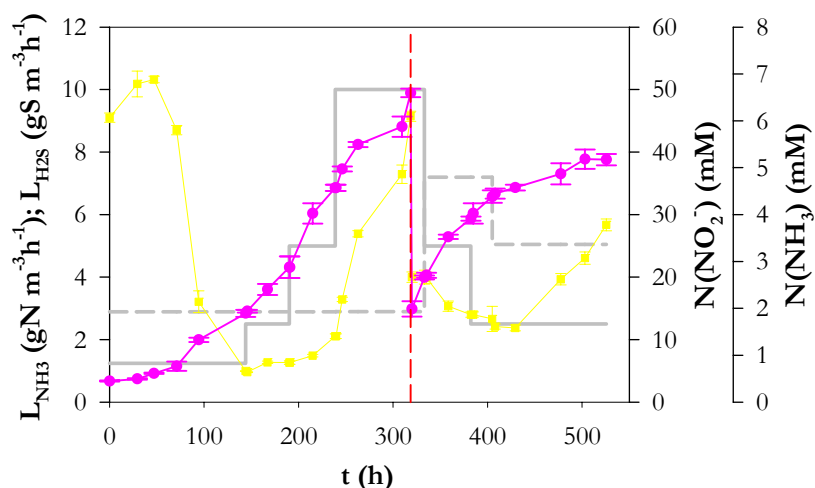


Fig 95. Serie co-inmovilización. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●) frente al tiempo

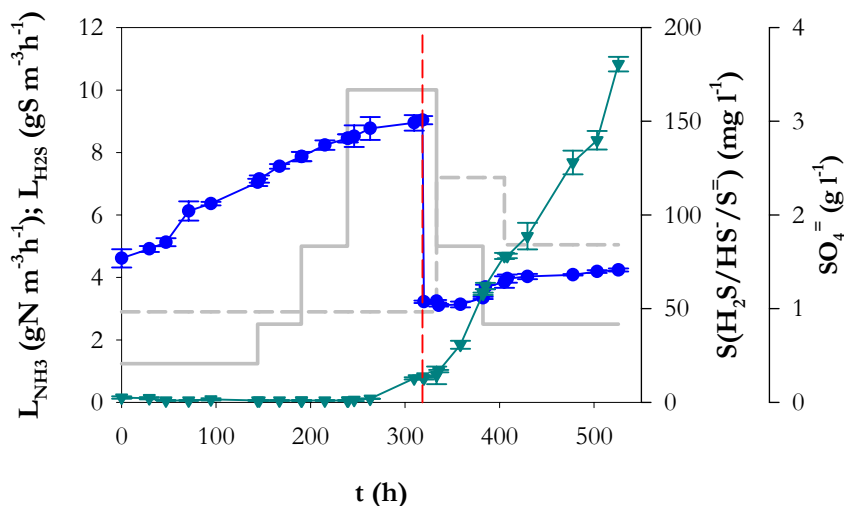


Fig 96. Serie co-inmovilización. Concentraciones de sulfato (●) y sulfuro (▼) frente al tiempo

Se realizó una reposición del medio de recirculación a las 318,5 horas de operación (marcada en los gráficos anteriores por una línea roja discontinua), ya que se produjo un aumento muy acusado de la concentración de amoníaco en el medio líquido. En este caso tenemos dos etapas, la primera de 318,5 h y la segunda desde las 318,5 horas hasta las 529,5 horas (tiempo final del experimento). Consideramos una etapa como el periodo que transcurre entre cada reposición del medio de recirculación.

Las concentraciones máximas alcanzadas de los productos derivados de la oxidación en cada etapa fueron de 3,01 y 1,43 g l⁻¹ de sulfato y de 49,5 y 39,0 mM de N(NO₂-), respectivamente. En cuanto a la concentración de sulfuro total, los datos de la Figura anterior representan, al igual que anteriormente, la suma de las 3 especies que se forman al absorberse el H₂S de la fase gaseosa a la líquida, aunque en este caso la medida ha de tomarse con cautela, puesto que como producto intermedio en la oxidación de H₂S se puede formar sulfito (Buisman *et al.*, 1990; Kelly 1999a) e incluso tiosulfato (Peck 1962), compuestos éstos que son reactivos frente al yodo.

En ambas etapas, transcurrido cierto tiempo de operación, se observa un fenómeno de acumulación (positiva) del compuesto. Este hecho se produce para las siguientes concentraciones de los productos derivados de la oxidación y sulfuro total (Tabla 40):

Etapa	Acumulación NH ₃			Acumulación H ₂ S	
	[SO ₄ ⁼]	[N(NO ₂ -)]	[S(H ₂ S/HS-/S ⁼)]	[SO ₄ ⁼]	[N(NO ₂ -)]
1	2,84	37	1,28	2,92	41
2	1,34	34	88,64	1,04	20
	g l ⁻¹	mM	mg l ⁻¹	g l ⁻¹	mM

Tabla 40. Concentraciones de los productos de oxidación y sulfuro total que provocan una acumulación del sustrato (Biofiltros en serie co-inmovilización)

Es de destacar que, en la primera etapa, la acumulación de amoníaco esta relacionada con la concentración alcanzada de nitrito, puesto que la acumulación se produce para concentraciones muy similares de nitrito y muy distintas de sulfato y sulfuro total; por tanto, se puede decir que, en estas condiciones de operación con ambos microorganismos co-

inmovilizados, se produce una inhibición de la oxidación de amoníaco a concentraciones de nitrito mucho más bajas que las obtenidas en la eliminación de amoníaco por la cepa pura de *Nitrosomonas europaea* de forma aislada (100 mM de Nitrito). La incorporación de una nueva especie en el biofiltro, así como la presencia de nuevos metabolitos (azufre, sulfato) modifica la biopelícula y, por tanto, la actividad de ésta, siendo en este caso más sensible a las concentraciones de nitrito. En cuanto a la concentración de sulfuro total, en el experimento anterior de dos biofiltros independientes se observó la inhibición a partir de 213 mgS l⁻¹; en este caso, la acumulación de amoníaco se produce para valores más bajos y muy distintos, 1,28 y 88,6 mgS l⁻¹, por lo que nuevamente cabe pensar en la presencia del nitrito como responsable de esta inhibición.

En cuanto a la acumulación de H₂S, no se puede asegurar claramente si se debe a la presencia de sulfato o nitrito en el medio de recirculación. En la primera etapa, coincide con el valor de la concentración de nitrito que produce la acumulación de amoníaco; mientras que en la segunda etapa, la acumulación se produjo a valores muy bajos de ambos productos de la oxidación.

Tal y como se recoge en los estudios realizados de eliminación conjunta, se produce un efecto de disminución de la eliminación de amoníaco al aumentar la concentración de H₂S (Chung *et al.*, 2000; 2001; Lee *et al.*, 2002; 2003b; Chung *et al.*, 2004a; 2004; 2005).

En nuestro estudio, el amoníaco fue eliminado completamente en el BNE, consiguiéndose en algún momento, para todo el rango de trabajo, un porcentaje de eliminación biológica mayor del 100% (Figura 97).

En el estudio realizado para una carga constante de amoníaco de 2,5 gN m⁻³h⁻¹ (73,9 ppmv), no se encontró inhibición en la eliminación de amoníaco para un rango de la carga entre 2,89 y 7,19 gS m⁻³h⁻¹ (37,4 a 93 ppmv).

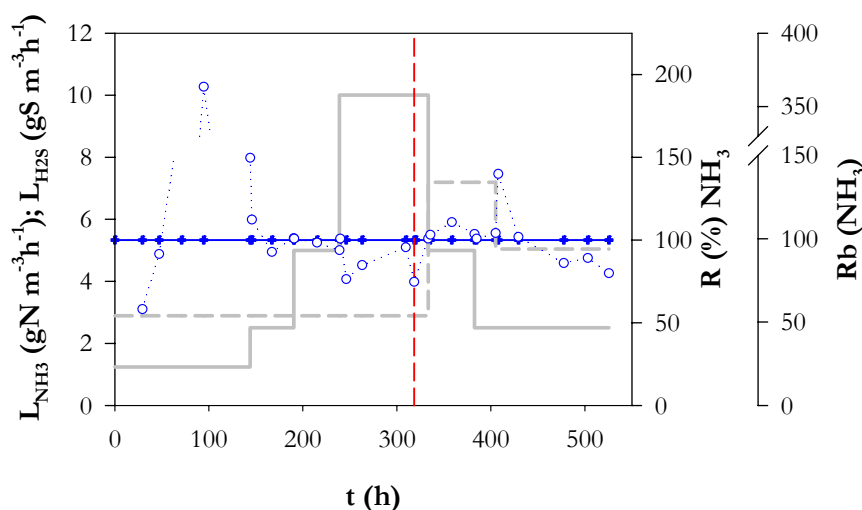


Fig 97. Serie co-inmovilización. Porcentaje de eliminación (+) y eliminación biológica (o) de amoníaco frente al tiempo

Para la carga más alta de amoníaco ($10 \text{ gN m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), la eliminación biológica empieza a disminuir ya que se empezó a acumular el amoníaco en el medio de recirculación. Esta disminución del porcentaje de eliminación se recupera cuando se repone el medio de recirculación y se consigue disminuir la concentración de nitrito. Se puede pensar que esta inhibición se deba a la concentración de sulfato, dado que, tal y como se ha comentado anteriormente, en la segunda etapa se observa este mismo fenómeno a concentraciones de sulfato muy inferiores, y no sería posible atribuirlo a la concentración de sulfuro total, puesto que al final de la primera etapa su concentración es muy baja; anteriormente no se alcanzó inhibición hasta concentración de 213 mgS l^{-1} . Hay que tener en cuenta, que el BT^{*}T también está contribuyendo a la eliminación de amoníaco, puesto que el medio de recirculación es el mismo para ambos biofiltros y pueden estar presentes ambos microorganismos en los dos biofiltros. Por tanto, puede decirse que la capacidad de eliminación de amoníaco no se ve afectada por la carga de entrada de H_2S en el rango de trabajo estudiado; sin embargo, la eliminación biológica puede disminuir como consecuencia del aumento de la concentración de amoníaco en el medio líquido, cuando la concentración de nitrito supera los 34-37 mM. Por tanto, teniendo en cuenta todas estas premisas, se hace necesario realizar un adecuado control

del valor de la concentración de nitrito en el medio de recirculación para evitar la acumulación del amoníaco.

En cuanto a la eliminación de H_2S , en la Figura 98 se han representado los porcentajes de eliminación considerando los dos biofiltros conjuntamente, es decir, la concentración de entrada al BNE y la salida del BT'T.

Se observa que, a partir de la primera reposición de medio, se produce un aumento de la concentración de sulfuro total en el medio líquido, que provoca una disminución de ambos porcentajes de eliminación; caída del porcentaje de eliminación biológica por el aumento de la concentración de sulfuro total en el medio de recirculación y de la eliminación global por problemas de absorción física del H_2S , al tener una alta concentración en el medio líquido. Hay que resaltar que el H_2S es mucho menos soluble que el amoníaco.

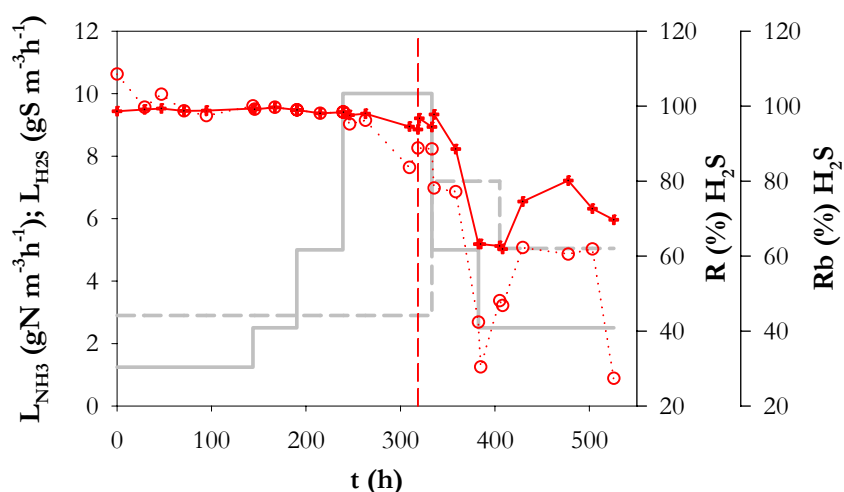


Fig 98. Serie co-inmovilización. Porcentaje de eliminación (+) y de eliminación biológica (○) de ácido sulfhídrico frente al tiempo

La concentración de salida de ácido sulfhídrico del BNE fue muy baja, como se puede observar en la Figura 99, donde se ha representado la carga de alimentación del BT'T y los porcentajes de eliminación alcanzados en el BT'T.

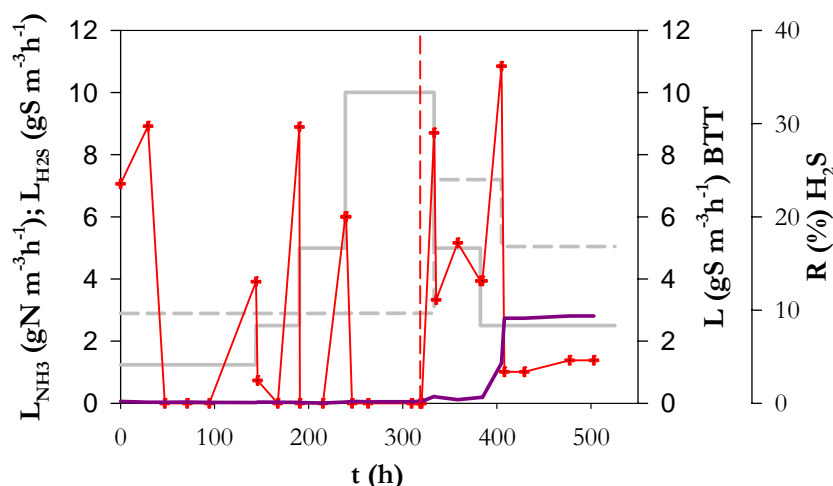


Fig 99. Serie co-inmovilización (BTT). Carga (—) y porcentaje de eliminación (+) de ácido sulfhídrico frente al tiempo

La eliminación en el BTT se situó siempre por debajo del 40% para todo el rango de trabajo. Hay que considerar que para estas cargas y concentraciones tan pequeñas, tienen mucha importancia las resistencias a la transferencia de materia, puesto que el gradiente de concentración es muy pequeño. En caso de tener una acumulación del H_2S en el medio de recirculación podría incluso producirse un gradiente en sentido opuesto. Por otra parte, es necesario remarcar que el BTT está consumiendo ácido sulfhídrico disuelto en el medio de recirculación y, por tanto, su aportación a la eliminación global es muy alta. Este hecho se puede comprobar ya que desde los primeros instantes de operación se alcanza una alta eliminación de ácido sulfhídrico y ésta sólo es atribuible al BTT, puesto que en el BNE no hay inicialmente bacterias azufre oxidantes.

En la Tabla 41 aparecen los valores de los porcentajes de eliminación y eliminación biológica mínimos, máximos y los valores medios integrales para la eliminación de H_2S , para una carga constante de H_2S de $2,89\ gS\ m^{-3}\ h^{-1}$.

gN m ⁻³ h ⁻¹	R (%) H ₂ S			Rb (%) H ₂ S		
	Min.	Max.	Media	Min.	Max.	Media
1,24	98,6	99,4	99,0	97,4	108,5	100,4
2,50	99,0	99,7	99,4	99,0	99,7	99,4
5,00	98,1	99,0	98,4	98,1	99,0	98,4
10,00	93,8	98,4	96,3	83,6	98,4	90,9

Tabla 41. Serie co-inmovilización. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H₂S.
L_{H₂S} 2,89 gS m⁻³h⁻¹

Aunque la caída de los valores máximos de eliminación alcanzados no es muy significativa, se observa que, al aumentar la carga de amoníaco, se provoca una pequeña disminución de los porcentajes de eliminación de H₂S, coincidiendo con los estudios realizados de eliminación conjunta, en los cuales se concluyó que la presencia de amoníaco no afectaba significativamente a la eliminación de H₂S (Chung *et al.*, 2000; 2001; Lee *et al.*, 2002; 2003b; Chung *et al.*, 2004a; 2004; 2005).

El porcentaje de eliminación alcanzado para la eliminación conjunta con una carga de 2,89 gS m⁻³h⁻¹ en el BTT, en las mismas condiciones de operación (excepto pH de 7,1-7,2), fue del 97,9%, por lo que se puede decir que la variación no es significativa, alcanzándose valores de eliminación incluso mayores para este caso.

Para valores más altos de concentración de H₂S si se produjo una disminución del porcentaje de eliminación de H₂S. En la Tabla 42 se presentan los valores mínimos, máximos y medios integrales del porcentaje de eliminación de ácido sulfhídrico, obtenidos para una carga de amoníaco constante de 2,5 gN m⁻³h⁻¹.

gS m ⁻³ h ⁻¹	R (%) H ₂ S			Rb (%) H ₂ S		
	Min.	Max.	Media	Min.	Max.	Media
2,89	99,0	99,7	99,4	99,0	99,7	99,4
5,04	57,7	96,0	74,2	27,4	75,8	58,1
7,19	62,7	63,2	63,0	30,4	48,1	39,3

Tabla 42. Serie co-inmovilización. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H₂S.
L_{NH₃} 2,5 gN m⁻³h⁻¹

El estudio realizado con las cargas de 5,0 y 7,2 gS m⁻³h⁻¹ se realizó en la segunda etapa, donde la concentración de sulfuro total en el medio líquido aumentó hasta 183,4 mgS l⁻¹. En toda ella, la concentración de sulfato fue menor de 1,43 g l⁻¹, por lo que puede suponerse que no existirá inhibición por parte de este compuesto. Por otra parte, dado que la concentración de nitrito se mantuvo entre 20 y 33 mM, para la carga de 7,2 gS m⁻³h⁻¹, y entre 30 y 33 mM, para la carga de 5,0 gS m⁻³h⁻¹, se puede decir que la presencia de nitrito es responsable de la inhibición del metabolismo de la bacteria *Thiobacillus thioparus*, disminuyendo su capacidad de eliminación. En los trabajos de eliminación conjunta que emplean estas mismas cepas, los valores de concentraciones máximas de nitrito alcanzadas son menores y, de ahí, que no se observe inhibición de la eliminación de amoníaco. Así Chung *et al.* (2000) trabajando con un biofiltro de escurrimiento con estas mismas especies alcanzaron una concentración máxima de nitrito de 386 mg l⁻¹ (28,3 mM), y en estudios posteriores Chung *et al.* (2007), trabajando con las mismas cepas obtienen concentraciones máximas de nitrito de 0,31 g l⁻¹ (6,74 mM). Para los valores de carga de 5,0 y 7,2 gS m⁻³h⁻¹, no se realizaron ensayos en el estudio de eliminación de H₂S de forma independiente (apartado 4.1.3.5 de la presente Tesis), ya que se estudiaron a tiempos de residencia del gas de 60 segundos con dos cargas de 2,89 y 11,50 gSm⁻³h⁻¹. Los porcentajes de eliminación obtenidos para las cargas anteriores de 2,89 y 11,50 gSm⁻³h⁻¹ fueron de 97,9 y 94,8 % respectivamente, por tanto puede suponerse que para cargas intermedias el porcentaje de eliminación estaría comprendido entre estos dos valores. Por lo que puede decirse que, en este caso, los valores alcanzados de los porcentajes de eliminación fueron bastante inferiores de 74,2 y 63,0% para 5,0 y 7,2 gS m⁻³h⁻¹ respectivamente (valores medios de la Tabla 42).

4.3.4. Eliminación en paralelo

Una vez finalizado el estudio de eliminación conjunta con ambos biofiltros conectados en serie, se inició el estudio del comportamiento de ambos biofiltros por separado, una vez contaminado un biofiltro con el otro. El objetivo de este tipo de experimentos es estudiar el comportamiento de ambos biofiltros para el tratamiento de efluentes contaminados con los

dos compuestos. En la Figura 100 se expone una fotografía de ambos biofiltros, BNE a la izquierda de la foto y BTT a la derecha. Los dos biofiltros aparecen protegidos de la luz.

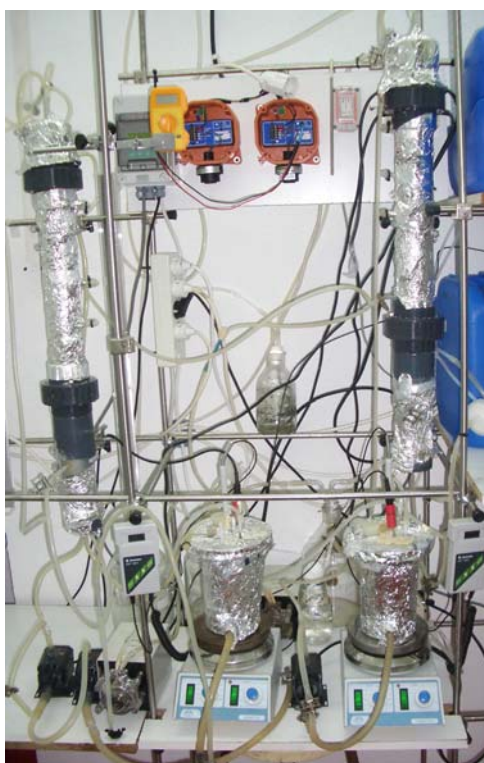


Fig 100. Fotografía sistema de eliminación en paralelo

4.3.4.1. Biofiltro BNE

Para realizar este estudio, el tiempo de residencia del gas se estableció en 60 segundos y el pH del medio de recirculación se mantuvo en un rango entre 7,5 y 7,6.

La alimentación de H_2S se realizó mediante el sistema de generación descrito en el Apartado de Material y Métodos de la presente memoria, salvo para la carga más alta de H_2S , que si hizo a partir de una botella de gas licuado. Igualmente para alimentar NH_3 se empleó el sistema de generación y la botella de gases licuados.

En la Figura 101, se han representado los valores utilizados para las cargas de alimentación de amoníaco y ácido sulfhídrico. Inicialmente, se mantuvo la carga de amoníaco en torno a valores de $3,3 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (98 ppmv NH_3) y se fue variando la carga de H_2S (3,5; 7,7; 3,5; 6,4 y

10 gS m⁻³h⁻¹, que representan concentraciones desde 45 hasta 129 ppmv de H₂S). Posteriormente, se fue aumentando la carga de amoníaco manteniendo constante la carga de H₂S en 10 gS m⁻³h⁻¹, desde 3,3 gN m⁻³h⁻¹ (98 ppmv NH₃) hasta valores de 10,9 gN m⁻³h⁻¹ (322 ppmv NH₃) y, por último, se disminuyó ésta hasta 3,9 gN m⁻³h⁻¹ (115 ppmv NH₃). En la Figura 101 aparece un punto singular a las 719 h, donde se produjo un corte del suministro de amoníaco debido a un fallo eléctrico.

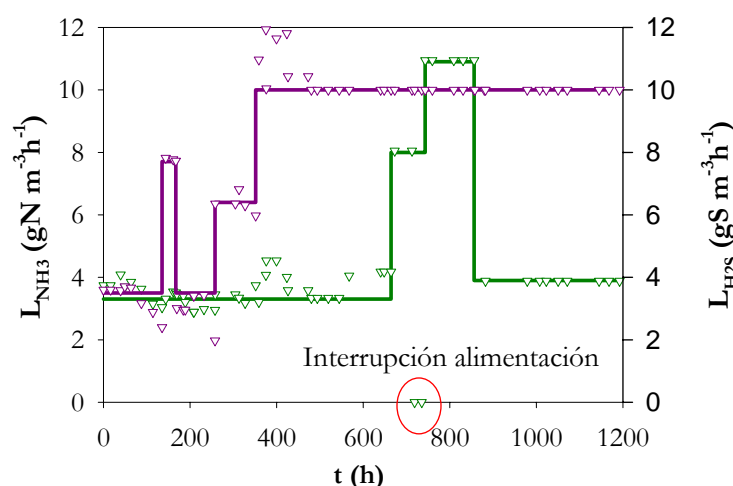


Fig 101. Paralelo BNE. Carga de amoníaco (▽); carga de ácido sulfhídrico (▽) frente al tiempo

La evolución de las concentraciones de los productos de oxidación, así como de la acumulación de sustratos se han representado en las Figuras 102 y 103.

Se realizaron 4 reposiciones del medio de recirculación a las 184,5; 423,8; 640,7 y 879,8 horas, respectivamente. Las concentraciones máximas alcanzadas de los productos derivados de la oxidación fueron de 2,55; 4,15; 4,10; 3,86 y 3,67 g l⁻¹ de sulfato y de 47,4; 46,8; 30,6; 74,9 y 76,0 mM de N(NO₂), estando en todo momento la concentración de sulfuro total por debajo de los 70 mgS l⁻¹. Al ser la concentración de sulfuro total mucho menor de 213 mgS l⁻¹, se descartarán posibles fenómenos de inhibición de la oxidación de amoníaco por este compuesto.

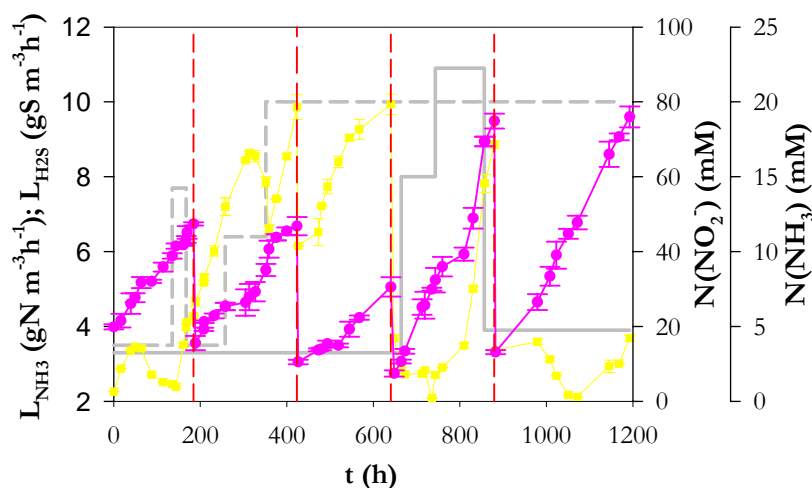


Fig 102. Paralelo BNE. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●) frente al tiempo

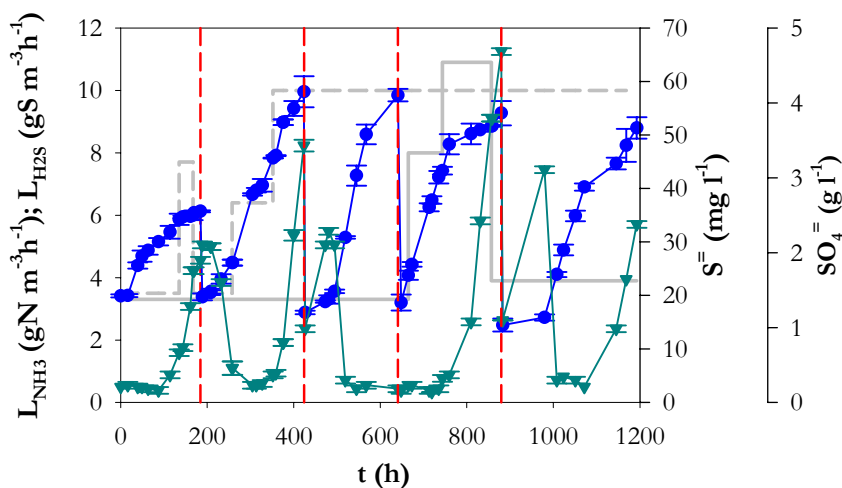


Fig 103. Paralelo BNE. Concentraciones de sulfato (●) y sulfuro total (▼) frente al tiempo

En la Tabla 43 se recogen los valores de las concentraciones de sulfato y nitrito que provocan una acumulación de la concentración de amoníaco y ácido sulfhídrico. Se puede observar que, excepto en la tercera etapa, en todas ellas se produce un aumento de la concentración de los sustratos.

Etapa	Acumulación NH ₃		Acumulación H ₂ S	
	[SO ₄ ⁼]	[N(NO ₂ ⁻)]	[SO ₄ ⁼]	[N(NO ₂ ⁻)]
1	2,48	41,5	2,48	41,5
2	3,30	40,7	3,30	40,7
3	-	-	-	-
4	3,58	39,3	3,45	36
5	2,88	47,8	2,88	47,8
	g l ⁻¹	mM	g l ⁻¹	mM

Tabla 43. Paralelo BNE. Concentraciones de los productos de oxidación que provocan una acumulación del sustrato

En la tercera etapa la concentración máxima de nitrito alcanzada fue de 30,6 mM y, a estos valores de concentración, no se acumuló el H₂S en el medio de recirculación, sino que, por el contrario, disminuyó hasta un valor constante. Este hecho confirma la hipótesis que se había expuesto en el apartado anterior, sobre la inhibición del metabolismo de la especie *Thiobacillus thioparus* por la presencia de nitrito. En este caso, se repuso el medio de recirculación, ya que la concentración de sulfato era de 4,10 g l⁻¹.

Para las etapas 1, 2 y 5 coinciden los valores de concentraciones en los que comienzan a acumularse ambos sustratos, aunque para la 4ª etapa ocurre un poco antes la acumulación de sulfuro total, siendo las concentraciones muy similares. Al igual que en el estudio anterior, parece que la concentración de sulfato no tiene un efecto considerable, siendo la concentración de nitrito la responsable de la acumulación; produciéndose a valores en el rango de los 40 mM N(NO₂⁻), la acumulación tanto del ácido sulfhídrico como del amoníaco en el medio de recirculación.

El porcentaje de eliminación de amoníaco fue del 100% (Figura 104), pero el porcentaje de eliminación biológica fue variable. La eliminación biológica aumentó rápidamente al reponer el medio de recirculación, logrando disminuir la concentración de nitrito por debajo de 40 mM y alcanzando valores superiores al 100% en todas las etapas o valores próximos a éste. En la cuarta etapa no se alcanzó el 100% por llegarse rápidamente a la concentración inhibitoria de nitrito, dado que la velocidad de generación fue mucho más alta al tener una mayor carga de amoníaco.

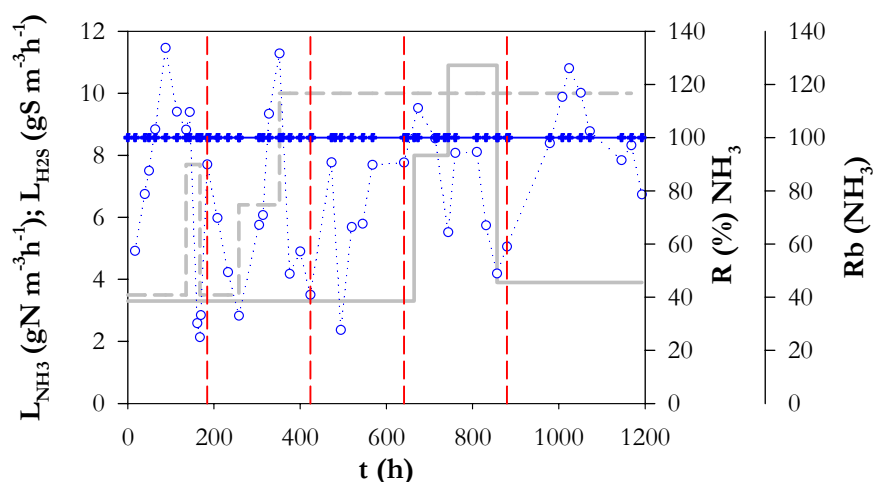


Fig 104. Paralelo BNE. Porcentaje de eliminación (+) y eliminación biológica (o) de amoníaco frente al tiempo

Con respecto a la eliminación de ácido sulfhídrico ocurre el mismo fenómeno que se había observado anteriormente; al aumentar la concentración de sulfuro en el medio líquido, no sólo disminuye el porcentaje de eliminación biológica sino que también lo hace el porcentaje de eliminación. En este caso, esta disminución ocurre a concentraciones de nitrito muy similares, en torno a 40 mM. Cuando se alcanza esta concentración de nitrito, el sulfuro se acumula y disminuye el porcentaje de eliminación biológica de H_2S . Al tener una alta concentración de sulfuro total en el medio líquido, se disminuye la transferencia de materia, lo que provoca que la concentración a la salida de H_2S del biofiltro aumente, con la consiguiente disminución del porcentaje de eliminación. En la tercera etapa la concentración máxima de nitrito fue de 30,6 mM y no disminuyó el porcentaje de eliminación de H_2S .

En la Figura 105 se han representado la evolución de los porcentajes de eliminación y eliminación biológica frente al tiempo y en la Tabla 44 aparecen los valores mínimos, máximos y medios de estos porcentajes para la eliminación de H_2S , con una carga constante de H_2S de $10,0 \text{ gS m}^{-3} \text{ h}^{-1}$.

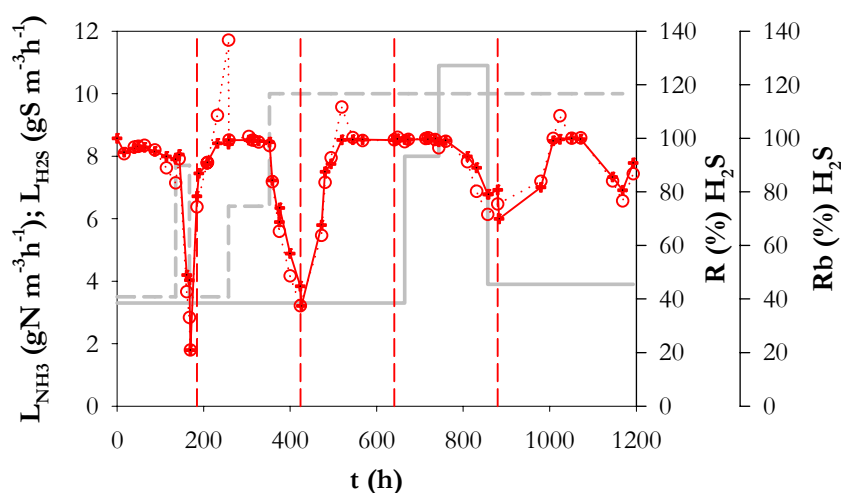


Fig 105. Paralelo BNE. Porcentaje de eliminación (+) y de eliminación biológica (o) de ácido sulfhídrico frente al tiempo

gN m ⁻³ h ⁻¹	R (%) H ₂ S			Rb (%) H ₂ S		
	Min.	Max.	Media	Min.	Max.	Media
3,3	67,6	99,7	84,8	63,7	111,6	86,1
3,9	69,9	99,9	86,0	83,9	108,4	99,4
8,0	99,5	99,8	99,6	99,4	100,1	99,7
10,9	79,1	99,2	90,7	71,5	98,8	86,6

Tabla 44. Paralelo BNE. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H₂S. L_{H2S} 10,0 gSm⁻³h⁻¹

El aumento de la carga de amoníaco no afecta directamente a la eliminación de H₂S, pero si lo hace de forma indirecta al aumentar la concentración de nitrito. En la Tabla 45 se muestran los valores obtenidos de los porcentajes de eliminación y eliminación biológica mínimos, máximos y los valores medios integrales para la eliminación de H₂S para una carga constante de NH₃ de 3,3 gN m⁻³h⁻¹.

Los valores obtenidos son bastante altos llegando incluso al 99,7% de eliminación para la carga más alta de H₂S, cuando la concentración de nitrito es menor de 40 mM.

	R (%) H ₂ S			Rb (%) H ₂ S		
gS m ⁻³ h ⁻¹	Min.	Max.	Media	Min.	Max.	Media
3,5	92,1	97,0	95,3	83,3	97,3	93,6
6,4	98,6	99,3	99,1	97,2	100,6	99,2
7,7	47,0	93,9	65,1	33,1	92,3	59,5
10,0	67,6	99,7	84,9	63,7	111,6	86,0

Tabla 45. Paralelo BNE. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H₂S. L_{NH3} 3,3 gN m⁻³h⁻¹

4.3.4.2. Biofiltro BTT

Al igual que para el BNE, una vez finalizada la eliminación con ambos biofiltros en serie, se comenzó a alimentar el BTT con una corriente de una mezcla de H₂S y NH₃. El tiempo de residencia del gas fue de 60 segundos y el pH del medio de recirculación se mantuvo en un rango de 7,5-7,6.

Para alimentar el sistema con H₂S se empleó la botella de gases licuados y para el suministro de amoníaco se utilizó el sistema de generación. En la Figura 106, se han representado los valores utilizados para las cargas de alimentación de amoníaco y ácido sulfhídrico.

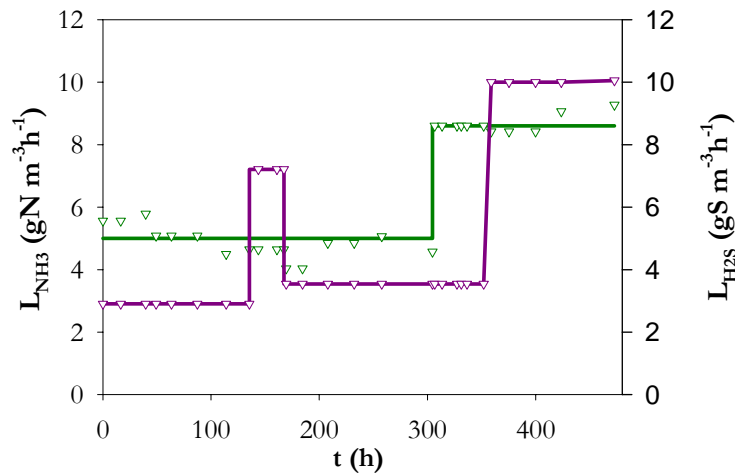


Fig 106. Paralelo BTT. Carga de amoníaco (▽); carga de ácido sulfhídrico (▽) frente al tiempo

Inicialmente, se mantuvo la carga de amoníaco en torno a $5 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (148 ppmv NH_3) y se fue variando la carga de H_2S (2,9; 7,2; 3,5 y $10 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$, rango de concentraciones desde 38 hasta $129 \text{ ppmv H}_2\text{S}$); a continuación, se aumentó la carga de amoníaco hasta $8,6 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ (254 ppmv NH_3) para las cargas de 3,5 y $10 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$, 45 y $129 \text{ ppmv H}_2\text{S}$ respectivamente.

La evolución de las concentraciones de los productos de oxidación, así como de la acumulación de sustratos se representan en las Figuras 107 y 108.

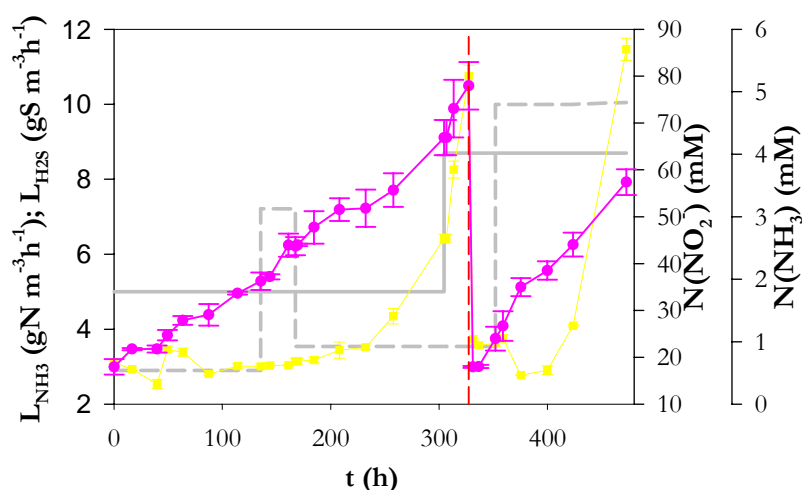


Fig 107. Paralelo BTT. Concentraciones de amoníaco (■) y nitrito (●) frente al tiempo

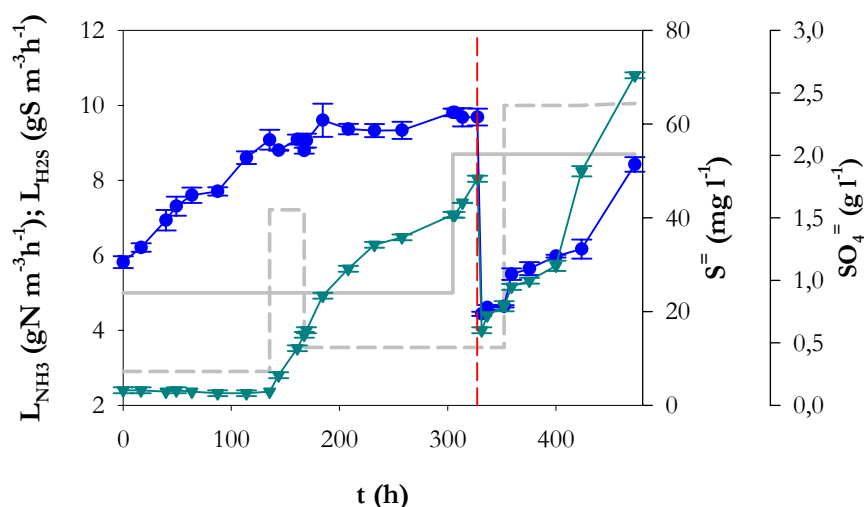


Fig 108. Paralelo BTT. Concentraciones de sulfato (●) y sulfuro (▼) frente al tiempo

Se llevó a cabo un cambio del medio de recirculación a las 327,3 horas. Las concentraciones máximas alcanzadas de los productos derivados de la oxidación fueron de 2,31 y 1,93 g l⁻¹ de sulfato; y 77,9 y 57,4 mM de N(NO₂) y la concentración de sulfuro total máxima alcanzada fue de 70,4 mgS l⁻¹. Por tanto, al ser la concentración de sulfuro total inferior a 213 mgS l⁻¹, se descartaron posibles efectos inhibitorios de la oxidación de amoníaco por este compuesto.

Se han realizado 2 etapas en las que se obtienen un aumento de las concentraciones de amoníaco y sulfuro para unas determinadas concentraciones de los productos de oxidación. Dichos valores aparecen recogidos en la Tabla 46.

Etapas	Acumulación NH ₃		Acumulación H ₂ S	
	[SO ₄ ⁼]	[N(NO ₂)]	[SO ₄ ⁼]	[N(NO ₂)]
1	2,20	51,8	2,12	36,2
2	1,25	44,0	1,19	38,5
	g l ⁻¹	mM	g l ⁻¹	mM

Tabla 46. Paralelo BTT. Concentraciones de los productos de oxidación que provocan una acumulación del sustrato

Al igual que en el estudio anterior parece que la concentración de sulfato no tiene un efecto considerable, siendo la concentración de nitrito la responsable de la acumulación; produciéndose a valores cercanos a los 40 mM N(NO₂) la acumulación del ácido sulfhídrico y entre 44-50 mM N(NO₂) la acumulación del amoníaco en el medio de recirculación.

El porcentaje de eliminación de amoníaco fue del 100% (Figura 109), pero el porcentaje de eliminación biológica fue variable, disminuyendo cuando la concentración de amoníaco aumentó en el medio de recirculación para los valores de nitrito y sulfato expuestos en la Tabla 46.

Con respecto a la eliminación de sulfhídrico (Figura 110), ocurre el mismo fenómeno que se observó anteriormente, al aumentar la concentración de sulfuro en el medio líquido no sólo disminuye el porcentaje de eliminación biológica sino que también lo hace el porcentaje de eliminación. En este caso, esta disminución ocurre a concentraciones de nitrito muy similares

y cercanas a los 40 mM. Cuando se alcanza esta concentración de nitrito, el ácido sulfhídrico se acumula en el medio de recirculación y disminuye el porcentaje de eliminación de H_2S .

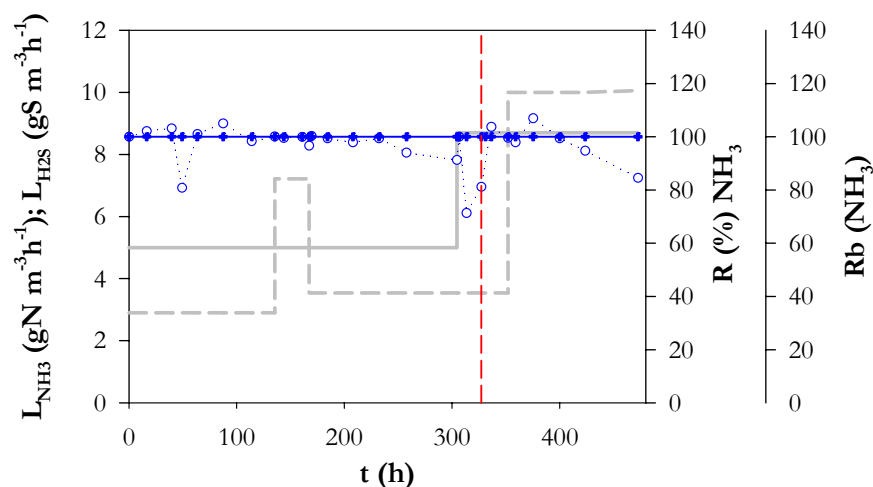


Fig 109. Paralelo BTT. Porcentaje de eliminación (+) y eliminación biológica (o) de amoníaco frente al tiempo

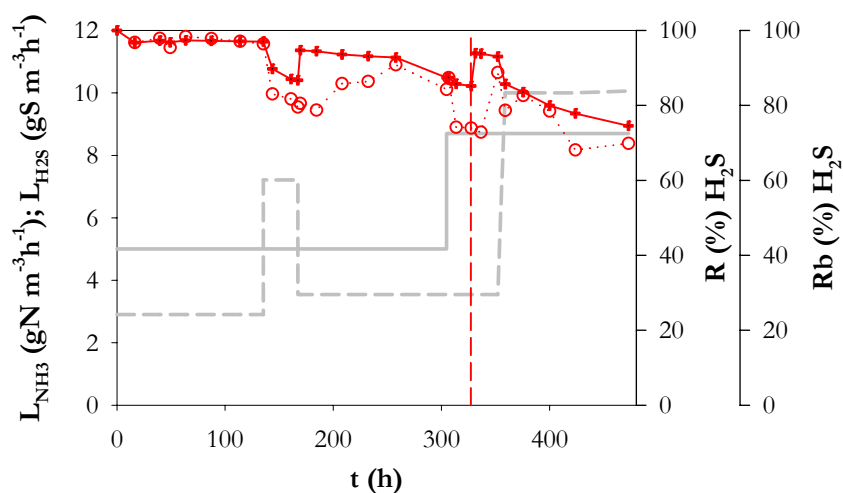


Fig 110. Paralelo BTT. Porcentaje de eliminación (+) y de eliminación biológica (o) de ácido sulfhídrico frente al tiempo

En la Tabla 47 aparecen reflejados los valores de los porcentajes de eliminación y eliminación biológica mínimos, máximos y los valores medios integrales para la eliminación de H_2S , para una carga constante de H_2S de $3,5 \text{ gS m}^{-3} \text{ h}^{-1}$.

gN m ⁻³ h ⁻¹	R (%) H ₂ S			Rb (%) H ₂ S		
	Min.	Max.	Media	Min.	Max.	Media
5,0	87,4	94,7	92,4	78,7	90,8	85,7
8,6	85,1	93,9	93,5	72,8	88,7	78,9

Tabla 47. Paralelo BTT. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H₂S. L_{H₂S} 3,5 gSm⁻³h⁻¹

El aumento de la carga de amoníaco no afecta a la eliminación de H₂S, pero si lo hace de forma indirecta al aumentar la concentración de nitrito. En la Tablas 48 y 49 se muestran los valores obtenidos para los porcentajes de eliminación y eliminación biológica mínimos, máximos y los valores medios integrales para la eliminación de H₂S y dos cargas constantes de NH₃ de 5,0 y 8,6 gN m⁻³h⁻¹, respectivamente.

gS m ⁻³ h ⁻¹	R (%) H ₂ S			Rb (%) H ₂ S		
	Min.	Max.	Media	Min.	Max.	Media
2,9	96,8	97,3	97,1	95,4	98,3	97,3
3,5	87,4	94,7	92,4	78,7	90,8	85,7
7,2	86,7	89,7	87,9	79,5	83,0	81,9

Tabla 48. Paralelo BTT. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H₂S. L_{NH₃} 5,0 gN m⁻³h⁻¹

gS m ⁻³ h ⁻¹	R (%) H ₂ S			Rb (%) H ₂ S		
	Min.	Max.	Media	Min.	Max.	Media
5	87,4	94,7	92,4	78,7	90,8	85,7
8,6	85,1	93,9	93,5	72,8	88,7	78,9

Tabla 49. Paralelo BTT. Porcentaje de eliminación y eliminación biológica de H₂S. L_{NH₃} 8,6 gN m⁻³h⁻¹

Al aumentar la carga de H₂S, se observa una disminución de la eliminación para ambas cargas de amoníaco, y el valor más alto obtenido para la carga más alta de H₂S fue del 93,9%, mientras que para el BNE se alcanzaron valores mucho más altos del 99,7% para cargas incluso mayores.

Finalmente puede afirmarse que ambas configuraciones son válidas para eliminar efluentes contaminados con ácido sulfhídrico y amoníaco. El BTT ha demostrado una resistencia algo

mayor a las concentraciones de nitrito y el BNE, aunque es más sensible a las concentraciones de nitrito, alcanza mayores porcentajes de eliminación de ácido sulfhídrico que el BTT.

Durante los estudios realizados de eliminación de ambos compuestos, tanto de forma aislada como conjunta, no se ha profundizado en el estudio de la biopelícula, cuyo papel es fundamental para poder llegar a conocer y dar explicación a los fenómenos que ocurren durante la oxidación de estos compuestos. Como parámetro, para el seguimiento del estado de la biomasa, se han realizado medidas de las concentraciones de sustrato y productos de oxidación, de tal manera que es de suponer un buen estado de la biopelícula, si los productos derivados de la oxidación aumentan disminuyendo las concentraciones del NH_3 y H_2S en la corriente gaseosa de salida del BTF y no se produce acumulación de éstos en el medio de recirculación. Igualmente, aunque no se han mostrado los datos, se realizaron medidas puntuales de la biomasa viable cada cierto intervalo de tiempo, así como para cada una de las configuraciones ensayadas, a partir de muestras de la biopelícula tomadas del soporte presente en el biofiltro. A partir de estas siembras se determinó el número de CFU (colony forming unit) por gramo de soporte y, mediante recuento en microscopio óptico, se determinó la concentración total de bacterias inmovilizadas. Los valores obtenidos para el BTT se situaron en el rango comprendido entre 1,19 y $1,91 \cdot 10^{11}$ células por gramo de soporte y de 1,10 a $5,65 \cdot 10^{10}$ CFU por gramo de soporte de *Thiobacillus thioparus*. En el caso del BNE, la cantidad de bacterias totales inmovilizadas por gramo de soporte fue un orden de magnitud menor, situándose entre 2,06 y $4,97 \cdot 10^{10}$ y la cantidad de CFU de *Nitrosomonas europaea* por gramo entre 1,22 y $2,28 \cdot 10^9$.

Al contaminar ambos biofiltros se logró una biopelícula mixta, de forma que el máximo de CFU de *Nitrosomonas europaea* alcanzada en el BTT fue de $1,24 \cdot 10^9$ y el máximo de CFU de *Thiobacillus thioparus* alcanzado en el BNE de $1,92 \cdot 10^{10}$. En Figura 111 se muestra una imagen de microscopía electrónica de barrido donde pueden verse ambos tipos de bacterias sobre el soporte.

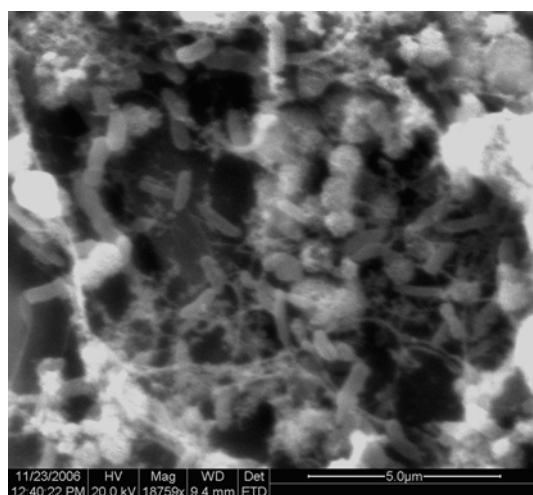


Fig 111. Biopelícula mixta de *Thiobacillus thioparus* y *Nitrosomonas europaea*

5. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que se pueden extraer de este trabajo se presentan a continuación de forma resumida:

✎ **Cinética de crecimiento:**

- La velocidad específica máxima de crecimiento de la cepa *Thiobacillus thioparus* ATCC 23645 obtenida en el cultivo sumergido fue de $0,0971 \text{ h}^{-1}$, agotando el sustrato al cabo de 70 h, con una disminución del pH desde 7,2 hasta 3,8. El producto principal de la oxidación en las primeras etapas es el sulfato, aumentando la formación de azufre elemental a partir de los 4 g l^{-1} de sulfato.
- La velocidad específica máxima de crecimiento de la cepa *Nitrosomonas europaea* ATCC 19718 obtenida en el cultivo sumergido fue de $0,0564 \text{ h}^{-1}$. El pH decrece desde 8,0 hasta 5,8 al cabo de 63 h, momento en que disminuye notablemente el metabolismo de la bacteria sin llegar a consumirse el sustrato.

✎ **Inmovilización y adaptación de la biopelícula:**

- Mediante la técnica de inmovilización en matraces, se puede llegar al máximo de inmovilización para la bacteria *Thiobacillus thioparus* en 3 ciclos (10,6 días) y para *Nitrosomonas europaea* en 4 ciclos (8,2 días); $1,69 \pm 0,16 \cdot 10^{11}$ y $3,97 \pm 0,70 \cdot 10^9$ células por gramo respectivamente. La velocidad de consumo de sustrato fue independiente de la cantidad de biomasa inmovilizada, siendo el oxígeno el sustrato limitante.
- La realización del proceso de inmovilización in situ permite llegar a una cantidad máxima de bacterias inmovilizadas de $8,19 \pm 1,29 \cdot 10^{10}$ células por gramo de soporte, para *Thiobacillus thioparus* en 7 días, y de $3,29 \pm 0,52 \cdot 10^{10}$ células por gramo de soporte para *Nitrosomonas europaea* en 7-8 días.
- La comparación de ambas técnicas de inmovilización permite concluir que la inmovilización in situ presenta una mayor velocidad de consumo de sustrato, es una técnica de fácil escalamiento y el soporte no necesita mucha manipulación, ya que todo

el proceso se realiza dentro del biofiltro. Por otro lado, la principal desventaja de esta técnica es la falta de homogenización de la biomasa inmovilizada en el soporte.

- De los estudios realizados, se puede concluir que no es necesaria una fase de adaptación de la biopelícula, ya que se alcanzan porcentajes de eliminación muy altos desde los primeros instantes de operación de los biofiltros.

Eliminación de ácido sulfhídrico:

De los estudios realizados para la eliminación de ácido sulfhídrico en un biofiltro de escurrimiento se pueden deducir las siguientes conclusiones:

- Al aumentar el caudal de recirculación se produce un incremento del porcentaje de eliminación, que llega al 10% al pasar de una velocidad superficial del líquido de 1,24 a 5,94 m h⁻¹.
- Cuando la concentración de sulfato en el medio de recirculación está por encima de 5 g l⁻¹ se registra una importante disminución del porcentaje de eliminación, del orden de un 24% al pasar de una concentración de 3,0 a 10,7 g l⁻¹.
- El pH óptimo para la eliminación de H₂S se sitúa entre 7,0 y 7,5. Por encima de 7,5 se produce una disminución del porcentaje de eliminación biológica. A pH 9,0 el porcentaje de eliminación biológica decae hasta el 61,6%.
- La capacidad de eliminación máxima alcanzada fue de 43,9 gS m⁻³h⁻¹, para una carga de alimentación de 54,98 gS m⁻³h⁻¹ (79,8% de eliminación) y la capacidad máxima crítica fue de 14,9 gS m⁻³h⁻¹ (eliminación mayor del 99,8%), para un tiempo de residencia de 150 segundos. En este caso, las constantes del modelo cinético toman los valores de $V_{\max}=56,7 \text{ gS m}^{-3}\text{h}^{-1}$ y $K_m=395,7 \text{ ppmv}$.
- El modelo cinético propuesto permite predecir la concentración del compuesto a cualquier altura del lecho, así como, la variación de las constantes cinéticas aparentes en función de ésta.
- Una disminución del tiempo de residencia del gas provoca una bajada del porcentaje de eliminación. Así, para las cargas estudiadas de 2,89 y 11,50 gS m⁻³h⁻¹, el porcentaje de eliminación fue mayor del 99% para tiempos de residencia mayores de 90 segundos.

-
- La aplicación del modelo cinético proporciona un ajuste adecuado de los datos experimentales frente a los teóricos, y permite una buena predicción de las variables de interés en el proceso, como el porcentaje de eliminación esperado en unas condiciones determinadas.
 - La pérdida de carga registrada en el biofiltro fue muy pequeña, siendo para el tiempo de residencia de 11 segundos, de 6,5 cm de agua por metro columna.

✚ Eliminación de amoníaco:

Al igual que en el caso anterior, los estudios realizados en un biofiltro de escurrimiento para la eliminación del amoníaco permiten enumerar las siguientes conclusiones:

- El caudal de recirculación no tiene un efecto significativo en el porcentaje de eliminación dentro del rango estudiado.
- El control de la concentración de nitrito en el medio líquido es un parámetro fundamental en la operación. A pH de 7,5 se encontró una disminución del porcentaje de eliminación biológica a partir de 114 mM.
- Se hace necesario un adecuado control del pH en la eliminación de amoníaco, siendo el pH óptimo de 7,5-8,0. A pH ácido, la inhibición se produce a concentraciones más bajas de nitrito, puesto que aumenta la concentración de ácido nitroso. De esta forma, para un valor de pH 6,6 el porcentaje de eliminación fue nulo para una concentración de nitrito de 61 mM. Al mismo tiempo, se registra una disminución de la concentración de amoníaco libre y un aumento de la concentración de amonio (forma ésta que no puede ser oxidada por la bacteria).
- La disminución del tiempo de residencia no afecta al porcentaje de eliminación para una carga de $8 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$ en el rango desde 150 hasta 5 segundos.
- Se pueden conseguir porcentajes de eliminación del 100%, si se mantiene la concentración de nitrito del medio de recirculación por debajo de 100 mM para cargas de hasta $270 \text{ gN m}^{-3}\text{h}^{-1}$, con tiempos de residencia del gas de 11 segundos (1464 ppmv de NH_3).

- La pérdida de carga fue muy pequeña, siendo para los tiempos de residencia de 11 y 5 segundos de 6,2 y 25,9 cm de agua por metro columna, respectivamente.

↪ **Eliminación conjunta de amoníaco y ácido sulfhídrico**

- La biofiltración en serie con dos biofiltros independientes no es válida para tratar este tipo de efluentes con estos microorganismos, puesto que al pH de trabajo estudiado el H_2S se absorbe en el primer biofiltro (BNE), impidiendo su eliminación biológica y provocando un efecto inhibitorio de la capacidad de oxidación biológica de la especie *Nitrosomonas europaea*.
- Se puede conseguir la co-inmovilización de ambos microorganismos empleando un único medio de recirculación para ambos biofiltros en serie. Mediante esta configuración, se pueden conseguir altos porcentajes de eliminación para un efluente con una concentración de amoníaco de hasta 296 ppmv (100% eliminación) y 36,7 ppmv de H_2S (porcentaje de eliminación >98%). Un aumento mayor de la concentración de H_2S , incluso para concentraciones más bajas de amoníaco (73,9 ppmv), hace que disminuya el porcentaje de eliminación de H_2S , aunque se mantiene el de amoníaco.
- Una vez co-inmovilizadas ambas bacterias en los dos biofiltros, y para un procedimiento de operación en paralelo, el BNE da mejores resultados, llegando a porcentajes de eliminación del 100% para un efluente con concentraciones de 238 ppmv de NH_3 y 129 ppmv de H_2S .
- El aumento de la carga de amoníaco no afecta a la eliminación de H_2S , pero si lo hace indirectamente al aumentar la concentración de nitrito. En todos los casos de eliminación conjunta, se produjo una acumulación del NH_3 y del H_2S para concentraciones de nitrito en torno 40mM, por lo que se ha de intentar mantener su concentración por debajo de estos niveles.

6. ANEXOS

6.1. DEFINICIÓN DE LOS PARÁMETROS UTILIZADOS

6.1.1. Tiempo de residencia

En biofiltración el tiempo de residencia se define sin considerar el relleno (EBRT; empty bed resident time), como el cociente entre el volumen empaquetado y el caudal de aire según:

$$EBRT (s) = \frac{Q (m^3 h^{-1})}{V (m^3)} \frac{3600 (s)}{1 h}$$

El término permite calcular rápidamente el volumen del equipo conocido el caudal de gas. El tiempo de residencia real, tiempo que permanece el aire en el biofiltro, se obtiene multiplicando el EBRT por la porosidad del lecho:

$$\tau (s) = \frac{Q (m^3 h^{-1})}{V (m^3)} \frac{3600 (s)}{1 h} \varepsilon$$

El efecto del EBRT y τ en el funcionamiento del biofiltro son semejantes. Generalmente cuando se incrementa su valor, por reducción del caudal de gas o aumento del volumen empaquetado, se mejora el funcionamiento del biofiltro. Sin embargo un tiempo de residencia alto implica un mayor coste del equipo.

6.1.2. Concentración del contaminante

En biofiltración, dada las bajas concentraciones de los compuestos a eliminar, se suele emplear comúnmente unidades en partes por millón en volumen (ppmv o $ml m^{-3}$). La concentración en ppmv a partir de una dada en $g m^{-3}$ se obtiene según la ecuación:

$$C_i (ppmv) = \frac{\bar{C}_i (g m^{-3}) [0,082 (273 + T (^{\circ}C))] (L mol^{-1})}{P_m (g mol^{-1})} \frac{10^3 ml}{1 L}$$

Se puede definir un factor λ igual a:

$$\lambda = \frac{[0,082 (273 + T (^{\circ}\text{C}))](\text{L mol}^{-1})}{P_m (\text{g mol}^{-1})} \frac{10^3 \text{ ml}}{1 \text{ L}}$$

Siendo entonces:

$$C_i (\text{ppmv}) = \lambda (\text{ppmv g}^{-1} \text{ m}^3) \bar{C}_i (\text{g m}^{-3})$$

6.1.3. Carga

Se define la carga de alimentación como, la masa de contaminante que se alimenta al biofiltro por unidad de volumen empaquetado y por unidad de tiempo según:

$$L (\text{g m}^{-3} \text{ h}^{-1}) = \bar{C}_0 (\text{g m}^{-3}) \frac{Q (\text{m}^{-3} \text{ h}^{-1})}{V (\text{m}^3)}$$

6.1.4. Capacidad de eliminación

Se define la capacidad de eliminación como, la masa de contaminante degradado por unidad de volumen empaquetado y por unidad de tiempo según:

$$EC (\text{g m}^{-3} \text{ h}^{-1}) = \frac{Q (\text{m}^{-3} \text{ h}^{-1})}{V (\text{m}^3)} [\bar{C}_0 (\text{g m}^{-3}) - \bar{C}_s (\text{g m}^{-3})]$$

La capacidad de eliminación sólo puede ser igual o menor que la carga de alimentación. Para cargas de alimentación pequeñas, la capacidad de eliminación es igual a la carga siendo el porcentaje de eliminación del 100% (Figura 112). Al incrementar la carga, llega un punto en que el porcentaje de eliminación disminuye del 100% y la representación de la capacidad de eliminación frente a la carga empieza a separarse de la recta del 100%; este punto es denominado típicamente carga crítica o capacidad de eliminación crítica. La disminución de la capacidad de eliminación al aumentar la carga se puede explicar dependiendo de cuál es el parámetro que incrementa la carga de alimentación. Si el caudal se aumenta o se disminuye el volumen, se disminuye el tiempo de residencia y el contaminante no tiene suficiente tiempo para difundir hasta la biopelícula y ser oxidado. Si la concentración se aumenta y se mantiene el caudal y el volumen, llega un momento en que no se puede absorber el contaminante y éste simplemente pasa a través del sistema sin tener posibilidad de ser oxidado. Para cargas muy

altas la capacidad de eliminación alcanza un valor constante denominado capacidad de eliminación máxima, que es independiente de la concentración del contaminante y del tiempo de residencia del gas en un rango amplio de condiciones de operación.

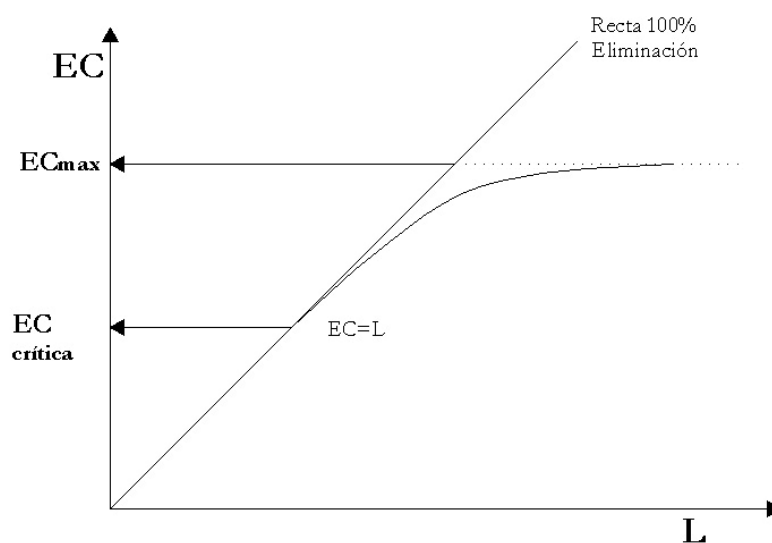


Fig. 112 Capacidad de eliminación máxima y crítica

6.1.5. Porcentajes de eliminación

El porcentaje de eliminación se define como:

$$R = 100 \left(\frac{C_0 - C_s}{C_0} \right) (\%)$$

Este porcentaje de eliminación considera solamente las concentraciones de entrada y salida del contaminante en el biofiltro, y es el que se utiliza normalmente por todos los investigadores.

Dada la posible absorción del contaminante en el medio líquido vamos a definir otro porcentaje de eliminación: “porcentaje de eliminación biológica: Rb”. Este nuevo valor va a considerar la eliminación que realmente se está produciendo por una oxidación biológica. Para su cálculo se ha de realizar un balance de materia al sistema:

$$(A) = (E) - (S) - (Rb)$$

Siendo:

(A): la velocidad de acumulación del compuesto en el medio de recirculación

(E): la velocidad de entrada del compuesto en el sistema

(S): la velocidad de salida del compuesto en el sistema

(Rb): la velocidad de degradación biológica del contaminante por la biomasa

Para el cálculo de la velocidad de entrada:

$$(E) = \bar{C}_0 Q$$

$$(S) = \bar{C}_s Q$$

$$(A) = \frac{\Delta \bar{C}_L}{\Delta t} V_L$$

Por tanto:

$$(R) = (E) - (S) - (A) = Q (\bar{C}_0 - \bar{C}_s) - \frac{\Delta \bar{C}_L}{\Delta t} V_L$$

Siendo el porcentaje de eliminación biológica:

$$(Rb) = \frac{(R)}{(E)} = \frac{Q (\bar{C}_0 - \bar{C}_s) - \frac{\Delta \bar{C}_L}{\Delta t} V_L}{\bar{C}_0 Q}$$

6.2. MODELADO CINÉTICO

En el proceso de degradación ocurren una serie de procesos en serie, como son la transferencia de materia del compuesto a degradar de la fase gas a la fase líquida, de la fase líquida a la biopelícula y degradación biológica del compuesto por la biomasa.

Aplicando la ecuación global del balance de materia a un elemento diferencial de volumen del biofiltro dV (Figura 113):

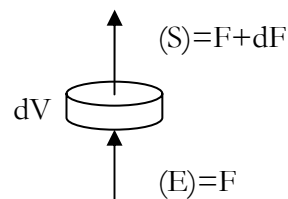


Fig. 113 Elemento diferencial de volumen para el balance de materia

$$(A) = (E) - (S) + (-R) \quad (1)$$

Siendo:

(A) la velocidad de acumulación en el elemento dV del biofiltro

(E) la velocidad de entrada en el elemento dV del biofiltro

(S) la velocidad de salida en el elemento dV del biofiltro

(-R) la velocidad de desaparición del compuesto por la degradación biológica en el elemento dV del biofiltro.

Si consideramos estado estacionario, entonces el término de acumulación es nulo ($A=0$), tendremos:

$$(S) = (E) + (-R) \quad (2)$$

Considerando el modelo ideal de flujo en pistón para la fase gas, el balance de la ecuación

(2) aplicado el elemento dV se reduce a:

$$F + dF = F + (-r_b) \cdot dV \quad (3)$$

$$dF = +(-r_b) \cdot dV \quad (4)$$

donde:

F: es el flujo molar

$(-r_b) \cdot dV$: es la velocidad de degradación biológica

y dado que:

$$dF = Q \cdot dC$$

$$dV = A \cdot dh$$

Sustituyendo en la ecuación 4:

$$Q \cdot dC = +(-r_b) \cdot A \cdot dh \quad (5)$$

$$\frac{Q}{A} \frac{dC}{dh} = (-r_b) \quad (6)$$

6.2.1. Orden Cero

Si asumimos una velocidad de oxidación dada por una ecuación cinética de orden cero del tipo:

$$(-r_b) = -K_0$$

Sustituyendo en la ecuación 6:

$$\frac{Q}{A} \frac{dC}{dh} = -K_0 \quad (7)$$

Separando variables:

$$dC = -K_0 \frac{A}{Q} dh \quad (8)$$

Si integramos con las siguientes condiciones de contorno:

$$C = C_0 \text{ para } h = 0$$

$$C = C \text{ para } h = h$$

Obtenemos:

$$\int_{C_0}^C dC = -K_0 \frac{A}{Q} \int_0^h dh \quad (9)$$

Integrando:

$$(C - C_0) = -K_0 \frac{A}{Q} h \quad (10)$$

Siendo el volumen $V = A h$, sustituyendo y despejando K_0

$$K_0 = (C_0 - C_s) \frac{Q}{V} = EC \quad (11)$$

6.2.2. Primer orden

Si asumimos una velocidad de oxidación dada por una ecuación cinética de primer orden del tipo:

$$(-r_b) = -K_1 C$$

Sustituyendo en la ecuación 6:

$$\frac{Q}{A} \frac{dC}{dh} = -K_1 C \quad (12)$$

Separando variables:

$$\frac{dC}{C} = -K_1 \frac{A}{Q} dh \quad (13)$$

Si integramos con las siguientes condiciones de contorno:

$$C = C_0 \text{ para } h = 0$$

$$C = C \text{ para } h = h$$

Obtenemos:

$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = -K_1 \frac{A}{Q} \int_0^h dh \quad (14)$$

Integrando:

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -K_1 \frac{A}{Q} h \quad (15)$$

Siendo el volumen $V = A h$, sustituyendo y despejando K_1

$$K_1 = \frac{Q}{V} \ln\left(\frac{C_0}{C}\right) \quad (16)$$

La concentración media logarítmica viene dada por:

$$C_{\ln} = \frac{(C_0 - C)}{\ln\left(\frac{C_0}{C}\right)} \quad (17)$$

Despejando el logaritmo neperiano de las concentraciones y sustituyendo en la ecuación anterior obtenemos:

$$K_1 = \frac{Q}{V} \frac{(C_0 - C)}{C_{\ln}} = \frac{EC}{C_{\ln}} \quad (18)$$

Luego:

$$EC = K_1 C_{\ln} \quad (19)$$

Podemos obtener la concentración a la salida del biofiltro:

$$C_s = C_0 \exp\left(-K_1 \frac{V}{Q}\right) \quad (20)$$

Una expresión del mismo tipo ha sido obtenida por Ottengraf (1986), para cinéticas de primer orden:

$$\frac{C_G}{C_{Gi}} = \exp\left(-\frac{h \cdot K_1}{m \cdot v_a}\right)$$

Donde: C_G la concentración del gas; C_{Gi} la concentración a la entrada; h la altura del biofiltro; K_1 la constante cinética de primer orden; m el coeficiente de partición gas-líquido, v_a la velocidad superficial del gas.

Igualmente Devinny y Hodge desarrollaron un modelo haciendo suposiciones simples con el objeto de acentuar los efectos derivados de realizar cambios en la concentración de entrada (Devinny *et al.*, 1991; Hodge and Devinny 1995; Hodge and Devinny 1997). Obteniendo la siguiente ecuación:

$$V \frac{dC}{dx} + b_1 \cdot k_m \cdot C = 0, \text{ con la siguiente solución analítica: } C = C_0 \cdot \exp\left(\frac{-b_1 \cdot k_m \cdot x}{V}\right)$$

Donde C es la concentración a lo largo de la altura “ x ” del biofiltro; C_0 es la concentración a la entrada, b_1 es la constante de primer orden de la degradación biológica, V la velocidad axial intersticial del aire y K_m es el cociente de partición entre la masa de contaminante en la fase sólido/líquido y en la fase gas.

Ambas ecuaciones son análogas a la obtenida mediante el desarrollo matemático anterior.

6.2.3. Tipo Monod

Si asumimos una velocidad de oxidación dada por una ecuación cinética tipo Monod:

$$(-r_b) = -\frac{V_{\max} C}{K_m + C} \quad (21)$$

Sustituyendo en la ecuación 6:

$$\frac{Q}{A} \frac{dC}{dh} = -\frac{V_{\max} C}{K_m + C} \quad (22)$$

Separando variables:

$$\frac{K_m + C}{C} dC = -V_{\max} \frac{A}{Q} dh \quad (23)$$

Si integramos con las siguientes condiciones de contorno:

$$C = C_0 \text{ para } h = 0$$

$$C = C \text{ para } h = h$$

Obtenemos:

$$K_m \int_{C_0}^C \frac{1}{C} dC + \int_{C_0}^C dC = -V_{\max} \frac{A}{Q} \int_0^h dh \quad (24)$$

Integrando:

$$K_m \ln \frac{C}{C_0} + (C - C_0) = -V_{\max} \frac{A}{Q} h \quad (25)$$

Cambiando de signo y sustituyendo el valor del volumen ($V = A h$)

$$K_m \ln \frac{C_0}{C} + (C_0 - C) = V_{\max} \frac{V}{Q} \quad (26)$$

Operando:

$$\ln \frac{C_0}{C} \left[K_m + \frac{(C_0 - C)}{\ln \frac{C_0}{C}} \right] = V_{\max} \frac{V}{Q} \quad (27)$$

$$\text{Siendo } C_{\ln} = \frac{(C_0 - C)}{\ln \left(\frac{C_0}{C} \right)} \quad (28)$$

$$\text{Al sustituir } \ln \left(\frac{C_0}{C} \right) = \frac{(C_0 - C)}{C_{\ln}} \quad (29)$$

$$\ln \frac{C_0}{C} [K_m + C_{\ln}] = V_{\max} \frac{V}{Q} \quad (30)$$

$$\frac{(C_0 - C)}{C_{\text{ln}}} [K_m + C_{\text{ln}}] = V_{\text{max}} \frac{V}{Q} \quad (31)$$

Reagrupando términos:

$$\frac{Q}{V} (C_0 - C) = \frac{V_{\text{max}} C_{\text{ln}}}{K_m + C_{\text{ln}}} = EC \quad (32)$$

Luego

$$EC = \frac{V_{\text{max}} C_{\text{ln}}}{K_m + C_{\text{ln}}} \quad (33)$$

Linealizando la ecuación anterior

$$\frac{1}{EC} = \frac{K_m}{V_{\text{max}}} \frac{1}{C_{\text{ln}}} + \frac{1}{V_{\text{max}}} \quad (34)$$

Se puede multiplicar por C_{ln} , obteniendo:

$$\frac{C_{\text{ln}}}{EC} = \frac{K_m}{V_{\text{max}}} + \frac{C_{\text{ln}}}{V_{\text{max}}} \quad (35)$$

Las ecuaciones anteriores han sido utilizadas previamente por distintos autores en biofiltros (Hirai *et al.*, 1990; Cho *et al.*, 1991a; Cho *et al.*, 1991b; Zhang *et al.*, 1991; Chung *et al.*, 1997a; Wani *et al.*, 1999; Chung *et al.*, 2000; Chung *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2002b; Streese *et al.*, 2005).

En la Tabla 50 se muestra una tabla resumen con las ecuaciones para cada tipo cinética

ORDEN CERO	ORDEN UNO	MONOD
$EC = K_0$ $K_0 = \frac{Q}{V} (C_0 - C_s)$ $C_s = C_0 - K_0 \frac{V}{Q}$	$EC = K_1 C_{\text{ln}}$ $K_1 = \frac{V}{Q} \ln \left(\frac{C_0}{C_s} \right)$ $C_s = C_0 \exp \left(-K_1 \frac{V}{Q} \right)$	$EC = \frac{V_{\text{max}} C_{\text{ln}}}{K_m + C_{\text{ln}}}$

Tabla 50: Resumen ecuaciones modelado. Cinéticas de orden cero, uno y Monod

6.3.RECTAS DE CALIBRADO

6.3.1. Medición de sulfato

El gráfico de la Figura 114 representa la recta de calibrado obtenida para la medición de sulfato. Las líneas discontinuas son para un margen de confianza del 95%.

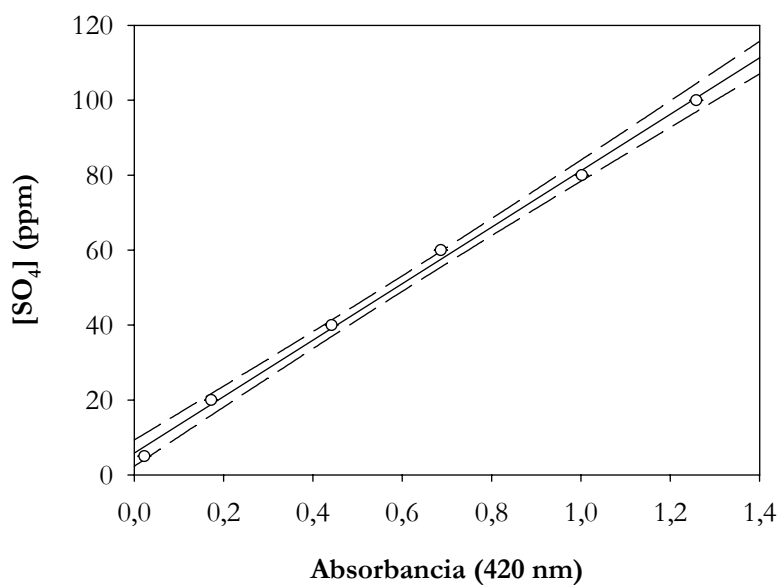


Fig 114. Medición de sulfato (recta de calibrado)

El coeficiente de regresión lineal fue de 0,9974, el valor de la pendiente de la recta de 75,4271 y la ordenada en el origen de 5,7992.

6.3.2. Medición de amoníaco

El gráfico de la Figura 115 representa la recta de calibrado obtenida para la medición de amoníaco. Las líneas discontinuas son para un margen de confianza del 95%.

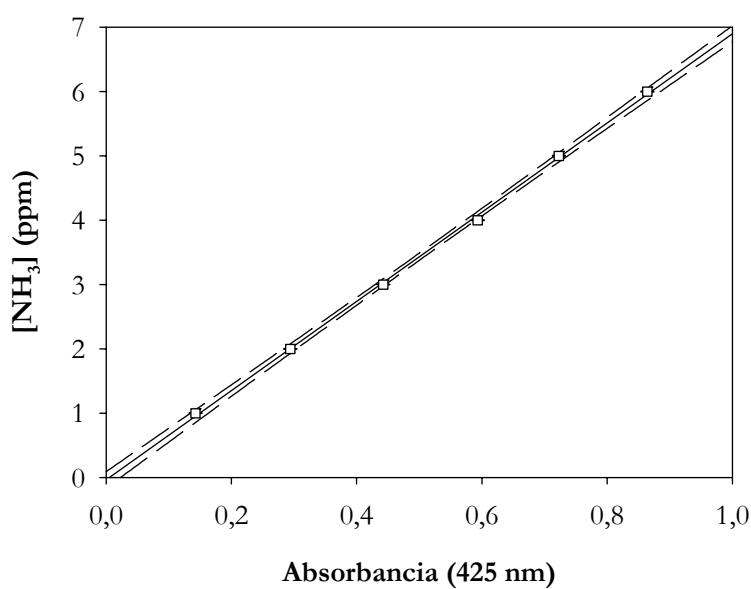


Fig 115. Medición de amoníaco (recta de calibrado)

El coeficiente de regresión lineal fue de 0,9993, el valor de la pendiente de la recta de 6,933 y la ordenada en el origen de -0,035.

6.3.3. Medición de nitrito

El gráfico de la Figura 116 representa la recta de calibrado obtenida para la medición de nitrito. Las líneas discontinuas son para un margen de confianza del 95%.

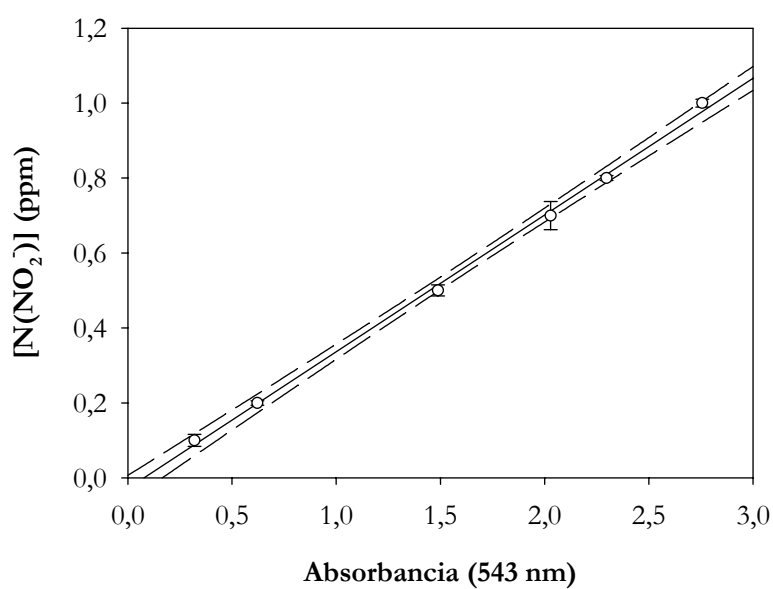


Fig 116. Medición de nitrito (recta de calibrado)

El coeficiente de regresión lineal fue de 0,9982, el valor de la pendiente de la recta de 0,3646 y la ordenada en el origen de -0,0280.

6.3.4. Medición de H₂S fase gas

La Figura 117 muestra una recta de calibrado realizada con el sensor específico para H₂S.

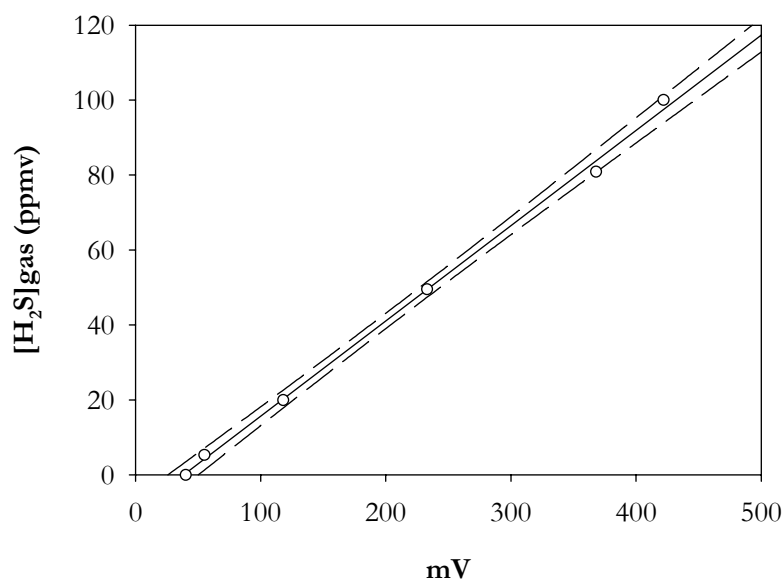


Fig 117. Medición de ácido sulfhídrico en fase gaseosa (recta de calibrado)

El coeficiente de regresión lineal fue de 0,9980, el valor de la pendiente de la recta de 0,2542 y la ordenada en el origen de -9,7849.

6.3.5. Medición de NH_3 fase gas

La Figura 118 muestra una recta de calibrado realizada con el sensor específico para NH_3 .

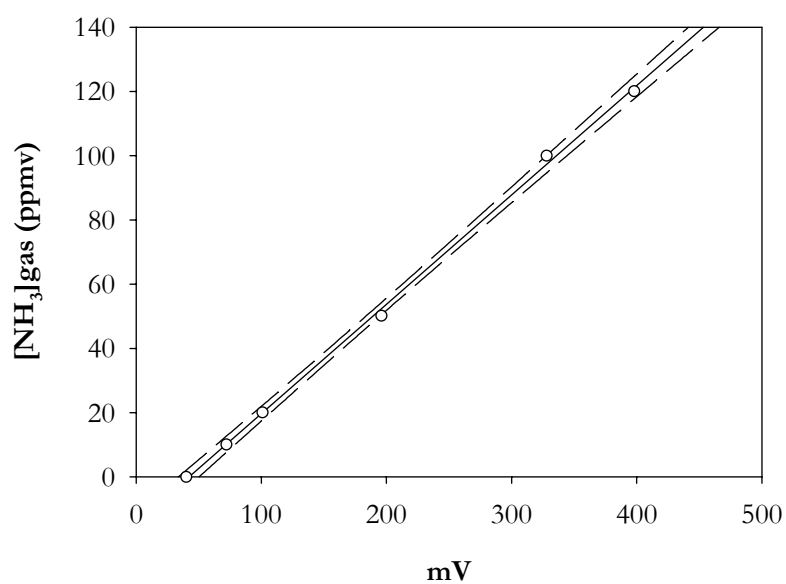


Fig 118. Medición de amoníaco en fase gaseosa (recta de calibrado)

El coeficiente de regresión lineal fue de 0,9988, el valor de la pendiente de la recta de 0,3407y la ordenada en el origen de -14,4072.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Æsøy A, Ødegaard H, Bentzen G. 1998. The effect of sulphide and organic matter on the nitrification activity in a biofilm process. *Water Science and Technology* 37(1):115.
- Aizpuru A, Malhautier L, Fanlo JL. 2002. Quantitative Structure-Activity Relationship Modeling of Biofiltration Removal. *Journal of Environmental Engineering* (Reston, VA, United States) 128(10):953-959.
- Alonso C, Zhu X, Suidan MT, Kim BR, Kim BJ. 1999. Mathematical model for the biodegradation of VOCs in trickle bed biofilters. *Water Science and Technology* 39(7):139-146.
- Amanullah M, Farooq S, Viswanathan S. 1999. Modeling and simulation of a biofilter. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 38(7):2765.
- Anthonisen AC, Loehr RC, Prakasam TBS, Srinath EG. 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 48(5):835.
- Bach. 1923. Sulfur in sewage. *Gesundheits-Ingenieur* 46:370-7.
- Baquerizo G, Maestre JP, Sakuma T, Deshusses MA, Gamisans X, Gabriel D, Lafuente J. 2005. A detailed model of a biofilter for ammonia removal: Model parameters analysis and model validation. *Chemical Engineering Journal* (Amsterdam, Netherlands) 113(2-3):205-214.
- Beccari M, Passino R, Ramadori R, Tandoi V. 1980. Inhibitory effects on nitrification by typical compounds in coke plant wastewaters. *Environmental Technology Letters* 1(5):245.
- Bentzen G, Smith AT, Bennett D, Webster NJ, Reinholt F, Sletholt E, Hobson J. 1995. Controlled dosing of nitrate for prevention of H₂S in a sewer network and the effects on the subsequent treatment processes. *Water Science and Technology* 31(7):293.
- Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT. 2006. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*: Springer US.
- Brüser T, Lens PNL, Trüper HG. 2000. The Biological Sulfur Cycle. In: Lents P, Hulshoff Pol L, editors. *Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution: Principles and Engineering*. London: IWA Publishing. p 547.
- Buisman CJN, Geraats BG, Ijspeert P, Lettinga G. 1990. Optimization of sulfur production in a biotechnological sulfide-removing reactor. *Biotechnology and Bioengineering* 35(1):50-6.
- Buonicore AJ. 2000. Control of gaseous pollutants. Condensation. In: Wayne T. Davis, editor. *Air Pollution Engineering Manual*. Second ed: John Wiley & Sons.
- Burch R, Southward BWL. 2001. The nature of the active metal surface of catalysts for the clean combustion of biogas containing ammonia. *Journal of Catalysis* 198(2):286.
- Busca G, Pistarino C. 2003. Abatement of ammonia and amines from waste gases: A summary. *Journal of Loss Prevention in the Process Industries* 16(2):157.
- Cadena F, Peters RW. 1988. Evaluation of chemical oxidizers for hydrogen sulfide control. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 60(7):1259.
- Carson P, Mumford CJ. 2002. *Hazardous Chemicals Handbook*: Elsevier Butterworth-Heinemann. 568 p.
- Clegg SL, Brimblecombe P. 1989. Solubility of ammonia in pure aqueous and multicomponent solutions. *Journal of Physical Chemistry* 93(20):7237.

- Clescerl LS, Greenberg AE, Eaton AD. 1989. Standards Methods for Examination of water and wastewater. APHA/AWWA/WPCF. Association APH, editor.
- Cline C, Hoksberg A, Abry R, Janssen A. 2003. Biological process for H₂S removal from gas streams the Shell-Paques/THIOPAQ gas desulfurization process. LRGCC Conference Proceedings 53rd:1-18.
- Cohen Y. 2001. Biofiltration - the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. Bioresource Technology 77(3):257-274.
- Cox HHJ, Deshusses MA. 2002. Co-treatment of H₂S and toluene in a biotrickling filter. Chemical Engineering Journal 87(1):101-110.
- Critoph RE. 2002. Multiple bed regenerative adsorption cycle using the monolithic carbon-ammonia pair. Applied Thermal Engineering 22(6):667.
- Chang C-T. 2006. Biofiltration of hydrogen sulfide-containing waste gas by entrapped mixed microbial cells. Journal of the Chinese Institute of Engineers 29(5):777-782.
- Chang SW, Hyman MR, Williamson KJ. 2002. Cooxidation of naphthalene and other polycyclic aromatic hydrocarbons by the nitrifying bacterium, *Nitrosomonas europaea*. Biodegradation 13(6):373.
- Chen YX, Yin J, Fang S. 2004a. Biological removal of air loaded with a hydrogen sulfide and ammonia mixture. Journal of Environmental Sciences (Beijing, China) 16(4):656-661.
- Chen YX, Yin J, Wang KX. 2005. Long-term operation of biofilters for biological removal of ammonia. Chemosphere 58(8):1023.
- Chen YX, Yin J, Wang KX, Fang S. 2004b. Effects of periods of nonuse and fluctuating ammonia concentration on biofilter performance. Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering 39(9):2447.
- Cheremisinoff NP. 1999. Handbook of Hazardous Chemical Properties: Elsevier Butterworth-Heinemann. 1 p.
- Cherry RS, Thompson DN. 1997. Shift from growth to nutrient-limited maintenance kinetics during biofilter acclimation. Biotechnology and Bioengineering 56(3):330-339.
- Chitwood DE, Devinny JS, Reynolds FE, Jr. 1999. Evaluation of a two-stage biofilter for treatment of POTW waste air. Environmental Progress 18(3):212-221.
- Cho K-S, Hirai M, Shoda M. 1991a. Degradation characteristics of hydrogen sulfide, methanethiol, dimethyl sulfide and dimethyl disulfide by *Thiobacillus thioparus* DW44 isolated from peat biofilter. Journal of Fermentation and Bioengineering 71(6):384-389.
- Cho K-S, Hirai M, Shoda M. 1992a. Enhanced removability of odorous sulfur-containing gases by mixed cultures of purified bacteria from peat biofilters. Journal of Fermentation and Bioengineering 73(3):219-224.
- Cho K-S, Hirai M, Shoda M. 1992b. Enhanced removal efficiency of malodorous gases in a pilot-scale peat biofilter inoculated with *Thiobacillus thioparus* DW44. Journal of Fermentation and Bioengineering 73(1):46-50.
- Cho K-S, Ryu HW, Lee NY. 2000. Biological deodorization of hydrogen sulfide using porous lava as a carrier of *Thiobacillus thiooxidans*. Journal of Bioscience and Bioengineering 90(1):25-31.
- Cho K-S, Zhang L, Hirai M, Shoda M. 1991b. Removal characteristics of hydrogen sulphide and methanediol by *Thiobacillus sp.* isolated from peat in biological deodorization. Journal of Fermentation and Bioengineering 71(1):44-49.

- Cho KS, Hirai M, Shoda M. 1992c. Enhanced removability of odorous sulfur-containing gases by mixed cultures of purified bacteria from peat biofilters. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 73(3):219.
- Chou M-S, Wang C-H. 2007. Treatment of Ammonia in Air Stream by Biotrickling Filter. *Aerosol and Air Quality Research* 7(1):17-32.
- Chung Y-C, Huang C, Pan JR, Tseng C-P. 1998. Comparison of autotrophic and mixotrophic biofilters for H₂S removal. *Journal of Environmental Engineering* (Reston, Virginia) 124(4):362-367.
- Chung Y-C, Huang C, Rushing Pan J, Tseng C-P. 2000. Biotreatment of H₂S and NH₃ containing waste gases by co-immobilized cells biofilter. *Chemosphere* 41(3):329-336.
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P. 1996a. Biodegradation of Hydrogen Sulfide by a Laboratory-Scale Immobilized *Pseudomonas putida* CH11 Biofilter. *Biotechnology Progress* 12(6):773-778.
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P. 1996b. Operation optimization of *Thiobacillus thioautotrophicus* CH11 biofilter for hydrogen sulfide removal. *Journal of Biotechnology* 52(1):31-38.
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P. 1997a. Removal of hydrogen sulfide by immobilized *Thiobacillus* sp. strain CH11 in a biofilter. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 69(1):58-62.
- Chung Y-C, Lin Y-Y, Tseng C-P. 2004a. Control of H₂S waste gas emissions with a biological activated carbon filter. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 79(6):570-577.
- Chung Y-C, Lin Y-Y, Tseng C-P. 2004b. Operational characteristics of effective removal of H₂S and NH₃ waste gases by activated carbon biofilter. *Journal of the Air & Waste Management Association* 54(4):450-458.
- Chung Y-C, Ho KL, Tseng C-P. 2007. Two-stage biofilter for effective NH₃ removal from waste gases containing high concentrations of H₂S. *Journal of the Air and Waste Management Association* 57(3):337.
- Chung Y-C, Huang C. 1998. Biotreatment of Ammonia in Air by an Immobilized *Nitrosomonas europaea* Biofilter. *Environmental Progress* 17(2):70.
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P. 1996c. Reduction of H₂S/NH₃ production from pig feces by controlling environmental conditions. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 31(1):139-155.
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P. 1997b. Biotreatment of ammonia from air by an immobilized *Arthrobacter oxydans* CH8 biofilter. *Biotechnology Progress* 13(6):794.
- Chung Y-C, Huang C, Tseng C-P. 2001. Biological elimination of H₂S and NH₃ from waste gases by biofilter packed with immobilized heterotrophic bacteria. *Chemosphere* 43(8):1043-1050.
- Chung Y-C, Lin Y-Y, Tseng C-P. 2004c. Control of H₂S waste gas emissions with a biological activated carbon filter. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 79(6):570.
- Chung Y-C, Lin Y-Y, Tseng C-P. 2005. Removal of high concentration of NH₃ and coexistent H₂S by biological activated carbon (BAC) biotrickling filter. *Bioresource Technology* 96(16):1812.
- Das Gracas Gomes M, Da Borges SSS, Lopes LGF, Franco DW. 1993. UV-visible spectrum of nitrous acid in solution: pK(a) determination and analytical applications. *Analytica Chimica Acta* 282(1):81.
- Datta I, Fulthorpe RR, Sharma S, Allen DG. 2007. High-temperature biotrickling filtration of hydrogen sulphide. *Applied Microbiology and Biotechnology* 74(3):708-716.

- de Bruijn P, van de Graaf AA, Jetten MSM, Robertson LA, Kuenen JG. 1995. Growth of *Nitrosomonas europaea* on hydroxylamine. FEMS Microbiology Letters 125(2-3):179-184.
- de Ory I, Romero LE, Cantero D. 2004. Optimization of immobilization conditions for vinegar production. Siran, wood chips and polyurethane foam as carriers for *Acetobacter aceti*. Process Biochemistry 39(5):547-555.
- De Zwart JMM, Kuenen JG. 1992. C1-cycle of sulfur compounds. Biodegradation 3(1):37-59.
- Dechant D, Ball P, Hatch C. 1999. Full scale validation of emerging bioscrubber technology for odor control. WEFTEC '99, Annual Conference & Exposition, 72nd, New Orleans, Oct. 9-13, 1999:2965-2975.
- Delhomenie MC, Heitz M. 2005. Biofiltration of air: A review. Critical Reviews in Biotechnology 25(1-2):53.
- Deshusses MA, Hamer G, Dunn IJ. 1995a. Behavior of biofilters for waste air biotreatment. 1. Dynamic model development. Environmental Science and Technology 29(4):1048-1058.
- Deshusses MA, Hamer G, Dunn IJ. 1995b. Behavior of biofilters for waste air biotreatment. 2. Experimental evaluation of a dynamic model. Environmental Science and Technology 29(4):1059-1068.
- Devinny JS, Chitwood DE. 2000. Two-stage biofiltration of sulfides and VOCs from wastewater treatment plants. Water Science and Technology 42(5-6, Waste Minimisation and End of Pipe Treatment in Chemical and Petrochemical Industries):411-418.
- Devinny JS, Deshusses MA, Webster TS. 1999. Biofiltration for Air Pollution Control: Lewis Publishers.
- Devinny JS, Medina VF, Hodge DS. Bench testing of fuel vapor treatment by biofiltration; 1991; Hazardous Materials Control Research Institute, Anaheim, California.
- Duan H, Koe LCC, Yan R. 2005. Treatment of H₂S using a horizontal biotrickling filter based on biological activated carbon: Reactor setup and performance evaluation. Applied Microbiology and Biotechnology 67(1):143-149.
- Duan H, Koe LCC, Yan R, Chen X. 2006. Biological treatment of H₂S using pellet activated carbon as a carrier of microorganisms in a biofilter. Water Research 40(14):2629.
- Duan H, Yan R, Koe LCC, Wang X. 2007. Combined effect of adsorption and biodegradation of biological activated carbon on H₂S biotrickling filtration. Chemosphere 66(9):1684.
- Elias A, Barona A, Arreguy A, Rios J, Aranguiz I, Peñas J. 2002. Evaluation of a packing material for the biodegradation of H₂S and product analysis. Process Biochemistry 37(8):813-820.
- Elías A, Barona A, Ríos FJ, Arreguy A, Munguira M, Peñas J, Sanz JL. 2000. Application of biofiltration to the degradation of hydrogen sulfide in gas effluents. Biodegradation 11(6):423-427.
- EPA. 2003. Toxicological review of Hydrogen sulfide.
- Ergun S. 1952. Fluid flow through packed columns. Chem. Eng. Prog. 48(2):89-94.
- Ferguson WS, Koch WC, Webster LB, Gould JR. 1977. Human physiological response and adaption to ammonia. Journal of Occupational Medicine 19(5):319-26.
- Focht DD, Verstraete W. 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. Advances in Microbial Ecology 1:135.
- Friedrich CG, Rother D, Bardischewsky F, Ouentmeier A, Fischer J. 2001. Oxidation of Reduced Inorganic Sulfur Compounds by Bacteria: Emergence of a Common Mechanism? Applied and Environmental Microbiology 67(7):2873-2882.

- Gabriel D, Cox HHJ, Deshusses MA. 2004. Conversion of full-scale wet scrubbers to biotrickling filters for H₂S control at publicly owned treatment works. *Journal of Environmental Engineering* 130(10):1110-1117.
- Gabriel D, Deshusses MA. 2003. Retrofitting existing chemical scrubbers to biotrickling filters for H₂S emission control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(11):6308-6312.
- Gang L, Van Grondelle J, Anderson BG, Van Santen RA. 1999. Selective low temperature NH₃ oxidation to N₂ on copper-based catalysts. *Journal of Catalysis* 186(1):100.
- Gómez JM, Cantero D, Webb C. 2000. Immobilisation of *Thiobacillus ferrooxidans* cells on nickel alloy fiber for ferrous sulfate oxidation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 54(3):335-340.
- Gracian C, Malhautier L, Fanlo JL, Le Cloirec P. 2002. Biofiltration of air loaded with ammonia by granulated sludge. *Environmental Progress* 21(4):237.
- Guidotti TL. 1994. Occupational exposure to hydrogen sulfide in the sour gas industry: some unresolved issues. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 66(3):153-60.
- Hartikainen T, Ruuskanen J, Martikainen PJ. 2001. Carbon disulfide and hydrogen sulfide removal with a peat biofilter. *Journal of the Air & Waste Management Association* 51(3):387-392.
- Hartikainen T, Ruuskanen J, Vanhatalo M, Martikainen PJ. 1996. Removal of ammonia from air by a peat biofilter. *Environmental Technology* 17(1):45.
- Haug RT. 1993 *The Practical Handbook of Compost Engineering*.
- Helmert S, Top FH, Sr., Knapp LW, Jr. 1971. Ammonia injuries in agriculture. *J Iowa Med Soc FIELD Full Journal Title:Journal of the Iowa Medical Society* 61(5):271-80.
- Hentz LH, Murray CM, Thompson JL, Gasner LL, Dunson JB. 1990. Odor control research at the Montgomery county regional compost facility. *The Water Pollution Control Specialty Conference Series - The Status of Municipal Sludge Management for the 1990s*.
- Hirai M, Kamamoto M, Yani M, Shoda M. 2001a. Comparison of the biological H₂S removal characteristics among four inorganic packing materials. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 91(4):396-402.
- Hirai M, Kamamoto M, Yani M, Shoda M. 2001b. Comparison of the biological NH₃ removal characteristics among four inorganic packing materials. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 91(4):428.
- Hirai M, Ohtake M, Shoda M. 1990. Removal kinetics of hydrogen sulfide, methanethiol and dimethyl sulfide by peat biofilters. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 70(5):334-339.
- Hodge DS, Devinny JS. 1995. Modeling removal of air contaminants by biofiltration. *Journal of Environmental Engineering (New York)* 121(1):21-32.
- Hodge DS, Devinny JS. 1997. Determination of transfer rate constants and partition coefficients for air phase biofilters. *Journal of Environmental Engineering (New York)* 123(6):577-585.
- Hodge DS, Medina VF, Islander RL, Devinny JS. 1991. Treatment of hydrocarbon fuel vapors in biofilters. *Environmental Technology* 12(8):655-62.
- Hong JH, Park KJ. 2005. Compost biofiltration of ammonia gas from bin composting. *Bioresource Technology* 96(6):741.
- Hori K, Yamashita S, Ishii S, Kitagawa M, Tanji Y, Unno H. 2001. Isolation, characterization and application to off-gas treatment of toluene-degrading bacteria. *Journal of Chemical Engineering of Japan* 34(9):1120-1126.

- Hunik JH, Meijer HJG, Tramper J. 1992. Kinetics of *Nitrosomonas europaea* at extreme substrate, product and salt concentrations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 37(6):802.
- Hyman MR, Wood PM. 1983. Methane oxidation by *Nitrosomonas europaea*. *Biochemical Journal* 212(1):31.
- Hyman MR, Wood PM. 1984. Ethylene oxidation by *Nitrosomonas europaea*. *Archives of Microbiology* 137(2):155.
- Hyman MR, Wood PM. 1985. Suicidal inactivation and labelling of ammonia mono-oxygenase by acetylene. *Biochemical Journal* 227(3):719.
- ICSC. 2003a. International Chemical Safety Card 0165.
- ICSC. 2003b. International Chemical Safety Card 0414.
- INE. 2007. Cuentas satélite sobre emisiones atmosféricas. Serie 1990 y 1995-2003. In: Estadística INd, editor.
- Jensen AB, Webb C. 1995a. Ferrous sulphate oxidation using *Thiobacillus ferrooxidans*: A review. *Process Biochemistry* 30(3):225.
- Jensen AB, Webb C. 1995b. Treatment of H₂S-containing gases: A review of microbiological alternatives. *Enzyme and Microbial Technology* 17(1):2.
- Jin Y, Veiga MC, Kennes C. 2005a. Autotrophic deodorization of hydrogen sulfide in a biotrickling filter. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80(9):998-1004.
- Jin Y, Veiga MC, Kennes C. 2005b. Effects of pH, CO₂, and flow pattern on the autotrophic degradation of hydrogen sulfide in a biotrickling filter. *Biotechnology and Bioengineering* 92(4):462-471.
- Jones K, Martinez A, Rizwan M, Boswell J. 2005. Sulfur toxicity and media capacity for H₂S removal in biofilters packed with a natural or a commercial granular medium. *Journal of the Air & Waste Management Association* 55(4):415-420.
- Jones KD, Martinez A, Maroo K, Deshpande S, Boswell J. 2004. Kinetic Evaluation of H₂S and NH₃ Biofiltration for Two Media Used for Wastewater Lift Station Emissions. *Journal of the Air and Waste Management Association* 54(1):24-35.
- Juliette LY, Hyman MR, Arp DJ. 1993. Inhibition of ammonia oxidation in *Nitrosomonas europaea* by sulfur compounds: Thioethers are oxidized to sulfoxides by ammonia monooxygenase. *Applied and Environmental Microbiology* 59(11):3718.
- Kanagawa T, Qi HW, Okubo T, Tokura N. 2004. Biological treatment of ammonia gas at high loading. *Water Science and Technology* 50(4):283.
- Kangas J, Savolainen H. 1987. Urinary thiosulphate as an indicator of exposure to hydrogen sulphide vapour. *Clinica Chimica Acta* 164(1):7-10.
- Karnofski MA. 1975. Odor generation in the kraft process. *Journal of Chemical Education* 52(8):490-2.
- Kelleher BP, Leahy JJ, Henihan AM, O'Dwyer TF, Sutton D, Leahy MJ. 2002. Advances in poultry litter disposal technology - A review. *Bioresource Technology* 83(1):27.
- Kelly DP. 1999a. Thermodynamic aspects of energy conservation by chemolithotrophic sulfur bacteria in relation to the sulfur oxidation pathways. *Archives of Microbiology* 171(4):219.
- Kelly DP. 1999b. Thermodynamic aspects of energy conservation by chemolithotrophic sulfur bacteria in relation to the sulfur oxidation pathways. *Archives of Microbiology* 171:219-229.
- Kelly DP. 2003. Microbial Inorganic Sulfur Oxidation: The APS Pathway. In: Ljungdahl LG, editor. *Biochemistry and Physiology of Anaerobic Bacteria*. New York: Springer. p 270.

- Kelly DP, Shergill JK, Lu W-P, Wood AP. 1997. Oxidative metabolism of inorganic sulfur compounds by bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology* 71:95-107.
- Kelly DP, Smith NA. 1990. Organic sulfur compounds in the environment. *Biogeochemistry, microbiology, and ecological aspects. Advances in Microbial Ecology* 11:345-85.
- Kennes C, Thalasso F. 1998. Waste gas biotreatment technology. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 72(4):303-319.
- Kim C-W, Park J-S, Cho S-K, Oh K-J, Kim Y-S, Kim D. 2003. Removal of hydrogen sulfide, ammonia, and benzene by fluidized bed reactor and biofilter. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 13(2):301-304.
- Kim H, Kim YJ, Chung JS, Xie Q. 2002a. Long-term operation of a biofilter for simultaneous removal of H₂S and NH₃. *Journal of the Air & Waste Management Association* 52(12):1389-1398.
- Kim H, Xie Q, Kim YJ, Chung JS. 2002b. Biofiltration of ammonia gas with sponge cubes coated with mixtures of activated carbon and zeolite. *Environmental Technology* 23(8):839-847.
- Kim JH, Rene ER, Park HS. 2007a. Biological oxidation of hydrogen sulfide under steady and transient state conditions in an immobilized cell biofilter. *Bioresource Technology* In Press, Corrected Proof.
- Kim JH, Rene ER, Park HS. 2007b. Performance of an immobilized cell biofilter for ammonia removal from contaminated air stream. *Chemosphere* 68(2):274.
- Kim NJ, Shoda M. 2002. Removal of a high load of ammonia by a marine bacterium, *Vibrio alginolyticus* in biofilter. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 7(5):316-322.
- Kim NJ, Sugano Y, Hirai M, Shoda M. 2000. Removal characteristics of high load ammonia gas by a biofilter seeded with a marine bacterium, *Vibrio alginolyticus*. *Biotechnology Letters* 22(16):1295-1299.
- Kim S, Deshusses MA. 2003. Development and experimental validation of a conceptual model for biotrickling filtration of H₂S. *Environmental Progress* 22(2):119-128.
- Kim S, Deshusses MA. 2005. Understanding the limits of H₂S degrading biotrickling filters using a differential biotrickling filter. *Chemical Engineering Journal* 113(2-3):119-126.
- Koe LCC, Yang F. 2000. A bioscrubber for hydrogen sulfide removal. *Water Science and Technology* 41(6, Control and Prevention of Odours in the Water Industry):141-145.
- Kohl AL, Nielsen R. 1997. *Gas Purification*: Elsevier. 1 p.
- Kok HJG. 1992. Bioscrubbing of air contaminated with high concentrations of hydrocarbons. *Studies in Environmental Science* 51(Biotech. Air Pollut. Abatement Odour Control Policies):77-82.
- Kosteltz AM, Finkelstein A, Sears G. 1996. What are the "real opportunities" in biological gas cleaning for North America. *Proceedings, Annual Meeting - Air & Waste Management Association* 89th.
- Kowalchuk GA, Stephen JR. 2001. Ammonia-oxidizing bacteria: A model for molecular microbial ecology. *Annual Review of Microbiology* 55:485.
- Krüger HC. 2001. Modelling H₂S biofiltration to predict solid sulphur formation [Master of Science]. Edmonton: University of Alberta. 172 p.
- Krupa SV. 2003. Effects of atmospheric ammonia (NH₃) on terrestrial vegetation: a review. *Environmental Pollution (Oxford, United Kingdom)* 124(2):179-221.

- Lecomte I, Martin G, Laplanche A, Lemasle M, Bloquel M. 1995. Odour pollution in carcass processing plants. Identification and characterization of malodorous flux. *Odours & VOC's J.*(1):39-40.
- Lee EY, Cho K-S, Ryu Hee W. 2005. Simultaneous removal of H₂S and NH₃ in biofilter inoculated with *Acidithiobacillus thiooxidans* TAS. *Journal of bioscience and bioengineering* 99(6):611-5.
- Lee EY, Cho KS, Han HD, Ryu HW. 2002. Hydrogen sulfide effects on ammonia removal by a biofilter seeded with earthworm casts. *Journal of Environmental Quality* 31(6):1782-1788.
- Lee EY, Lee NY, Cho KS, Ryu HW. 2006. Removal of hydrogen sulfide by sulfate-resistant *Acidithiobacillus thiooxidans* AZ11. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101(4):309.
- Leson G, Chavira R, Winer A, Hodge D. 1995. Experiences with a full-scale biofilter for control of ethanol emissions. *Proceedings of the 88th Annual Meeting & Exhibition of the Air & Waste Management Association*. June 18-23, 1995. San Diego.
- Lewis WK, Whitman WG. 1924. Principles of gas absorption. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* (Washington, D. C.) 16:1215-20.
- Li H, Mihelcic JR, Crittenden JC, Anderson KA. 2003. Field Measurements and Modeling of Two-Stage Biofilter that Treats Odorous Sulfur Air Emissions. *Journal of Environmental Engineering* (Reston, VA, United States) 129(8):684-692.
- Liang Y, Quan X, Chen J, Chung JS, Sung JY, Chen S, Xue D, Zhao Y. 2000. Long-term results of ammonia removal and transformation by biofiltration. *Journal of Hazardous Materials* 80(1-3):259.
- Lomans BP, Pol A, Op den Camp HJ. 2002. Microbial cycling of volatile organic sulfur compounds in anoxic environments. *Water Science and Technology* 45(10):55-60.
- Loy J, Flauger M. Biological elimination of styrene contaminated waste gas with the Zander biotrickling technology; 1996 1996.
- Ma Y-L, Yang B-L, Zhao J-L. 2006a. Removal of H₂S by *Thiobacillus denitrificans* immobilized on different matrices. *Bioresour Technol FIELD Full Journal Title:Bioresource technology* 97(16):2041-6.
- Ma Y, Zhao J, Yang B. 2006b. Removal of H₂S in waste gases by an activated carbon bioreactor. *International Biodeterioration and Biodegradation* 57(2):93.
- Madjid M. 2005. Biological Treatment of Waste Gases Containing Inorganic Compounds. *Biotechnology for Odor and Air Pollution Control*. p 253.
- Malhautier L, Gracian C, Roux J-C, Fanlo J-L, Le Cloirec P. 2003a. Biological treatment process of air loaded with an ammonia and hydrogen sulfide mixture. *Chemosphere* 50(1):145-153.
- Malhautier L, Gracian C, Roux JC, Fanlo JL, Le Cloirec P. 2003b. Biological treatment process of air loaded with an ammonia and hydrogen sulfide mixture. *Chemosphere* 50(1):145.
- Manero M-H. 1997. Industrial Air Pollution: Removal of dilute Gaseous Vapors. In: R.K Jain YA, C. Cabussud, M. Roustan, S.P. Shelton, editor. *Environmental Technologies and Trends. International and Policy Perspectives*: Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. K. p 93-97.
- Mansfield LA, Melnyk PB, Richardson GC. 1992. Selection and full-scale use of a chelated iron absorbent for odor control. *Water Environment Research* 64(2):120.
- Martin G, Lemasle M, Taha S. 1996. The control of gaseous nitrogen pollutant removal in a fixed peat bed reactor. *Journal of Biotechnology* 46(1):15.
- Melse RW, Mol G. 2004. Odour and ammonia removal from pig house exhaust air using a biotrickling filter. *Water Science and Technology* 50(4):275-288.

- Mesa MM, Macias M, Cantero D. 2002. Mathematical Model of the Oxidation of Ferrous Iron by a Biofilm of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnology Progress* 18(4):679-685.
- Moe WM, Irvine RL. 2000. Polyurethane foam medium for biofiltration. II: Operation and performance. *Journal of Environmental Engineering* 126(9):826-832.
- Morgan-Sagastume JM, Noyola A. 2006. Hydrogen sulfide removal by compost biofiltration: Effect of mixing the filter media on operational factors. *Bioresource Technology* 97(13):1546.
- Morton RL, Caballero RC. Removing hydrogen sulfide from wastewater treatment facilities' air process streams with a biotrickling filter; 1997 1997.
- Muirhead T, LaFond P, Dennis D. 1993. Air handling and scrubber retrofits optimize odor control. *Biocycle* 3:68.
- Nemati M, Harrison STL, Hansford GS, Webb C. 1998. Biological oxidation of ferrous sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*: A review on the kinetic aspects. *Biochemical Engineering Journal* 1(3):171.
- Ng YL, Yan R, Chen XG, Geng AL, Gould WD, Liang DT, Koe LCC. 2004. Use of activated carbon as a support medium for H₂S biofiltration and effect of bacterial immobilization on available pore surface. *Applied Microbiology and Biotechnology* 66(3):259-265.
- Nishimura S, Yoda M. 1997. Removal of hydrogen sulfide from an anaerobic biogas using a big-scrubber. *Water Science and Technology* 36(6-7):349-356.
- Ottengraf SPP. 1986. Exhaust gas purification. *Biotechnology*. p 425-52.
- Ottengraf SPP, Van den Oever AHC. 1983. Kinetics of organic compound removal from waste gases with a biological filter. *Biotechnology and Bioengineering* 25(12):3089-102.
- Oyarzun P, Arancibia F, Canales C, Aroca GE. 2003. Biofiltration of high concentration of hydrogen sulphide using *Thiobacillus thio-parus*. *Process Biochemistry* (Oxford, United Kingdom) 39(2):165-170.
- Pagans EL, Font X, Sanchez A. 2005. Biofiltration for ammonia removal from composting exhaust gases. *Chemical Engineering Journal* 113(2-3):105.
- Pagella C, Perego P, Zilli M. 1996. Biotechnological H₂S gas treatment with *Thiobacillus ferrooxidans*. *Chemical Engineering and Technology* 19(1):79.
- Park BG, Chung JS. 2006. Biokinetics on simultaneous biofiltration of H₂S, NH₃ and toluene in waste air. *Korean Journal of Chemical Engineering* 23(3):428.
- Park JY, Lee YN. 1988. Solubility and decomposition kinetics of nitrous acid in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry* 92(22):6294.
- Park S-J, Cho K-S, Hirai M, Shoda M. 1993. Removability of malodorous gases from a night soil treatment plant by a pilot-scale peat biofilter inoculated with *Thiobacillus thio-parus* DW44. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 76(1):55-59.
- Park SJ, Nam SI, Choi ES. 2001. Removal of odor emitted from composting facilities using a porous ceramic biofilter. *Water Science and Technology* 44(9):301-308.
- Peck HD, Jr., Fisher E, Jr. 1962. Oxidation of thiosulfate and phosphorylation in extracts of *Thiobacillus thio-parus*. *Journal of Biological Chemistry* 237:190-7.
- Peck HD, Sr. 1962. Symposium on metabolism of inorganic compounds. V. Comparative metabolism of inorganic sulfur compounds in microorganisms. *Bacteriological Reviews* 26:67-94.
- Perry RH, Green DW, James OM. 2001. *Manual del Ingeniero Químico*. Madrid: McGraw-Hill.

- Pinjing H, Liming S, Zhiwen Y, Guojian L. 2001. Removal of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by a packed tower with immobilized micro-organism beads. *Water Science and Technology* 44(9):327-333.
- Poth M. 1986. Dinitrogen production from nitrite by a *Nitrosomonas* isolate. *Applied and Environmental Microbiology* 52(4):957-9.
- Potivichayanon S, Pokethitiyook P, Kruatrachue M. 2006. Hydrogen sulfide removal by a novel fixed-film bioscrubber system. *Process Biochemistry* (Oxford, United Kingdom) 41(3):708-715.
- Prosser JJ. 1989. Autotrophic nitrification in bacteria. *Advances in microbial physiology* 30:125-181.
- Qiu G-l, Li Y-l, Zhao K. 2006. *Thiobacillus thioparus* immobilized by magnetic porous beads: Preparation and characteristic. *Enzyme and Microbial Technology* In Press, Corrected Proof.
- Ramirez EL, Corona JH, Dendooven L, Rangel P, Thalasso F. 2003. Characterization of five agricultural by-products as potential biofilter carriers. *Bioresource Technology* 88(3):259.
- Rasche ME, Hicks RE, Hyman MR, Arp DJ. 1990. Oxidation of monohalogenated ethanes and n-chlorinated alkanes by whole cells of *Nitrosomonas europaea*. *Journal of Bacteriology* 172(9):5368.
- Regina N. 2006. *Odors Treatment: Physicochemical Technologies*. *Odors in the Food Industry*. p 105.
- Riordan E, Minogue N, Healy D, O'Driscoll P, Sodeau JR. 2005. Spectroscopic and optimization modeling study of nitrous acid in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry A* 109(5):779.
- Rodier J. 1998. *Análisis de las aguas*: Ediciones Omega, S.A. Barcelona.
- Ruokojärvi A, Ruuskanen J, Martikainen PJ, Olkkonen M. 2001. Oxidation of gas mixtures containing dimethyl sulfide, hydrogen sulfide, and methanethiol using a two-stage biotrickling filter. *Journal of the Air and Waste Management Association* 51(1):11-16.
- Ruth JH. 1986. Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances: a review. *American Industrial Hygiene Association Journal* (1958-1999) 47(3):A-142-A-151.
- Sakano Y, Kerkhof L. 1998. Assessment of changes in microbial community structure during operation of an ammonia biofilter with molecular tools. *Applied and Environmental Microbiology* 64(12):4877.
- Sakuma T, Aoki M, Hattori T, Gabriel D, Deshusses MA. A conceptual model for the treatment of ammonia vapors in a biotrickling filter; 2004. p 1531.
- Schieder D, Quicker P, Schneider R, Winter H, Pechtl S, Faulstich M. 2003. Microbiological removal of hydrogen sulfide from biogas by means of a separate biofilter system: experience with technical operation. *Water Science and Technology* 48(4, Anaerobic Digestion of Solid Wastes III):209-212.
- Sercu B, Boon N, Verstraete W, Van Langenhove H. 2006. H₂S degradation is reflected by both the activity and composition of the microbial community in a compost biofilter. *Applied Microbiology and Biotechnology* 72(5):1090.
- Sercu B, Van Langenhove H, Boon N, Verstraete W, Núñez D, Aroca G. 2005a. Inoculation and start-up of a biotricking filter removing dimethyl sulfide. *Chemical Engineering Journal* 113(2-3):127-134.

- Sercu B, Van Langenhove H, Nuñez D, Aroca G, Verstraete W. 2005b. Operational and microbiological aspects of a bioaugmented two-stage biotrickling filter removing hydrogen sulfide and dimethyl sulfide. *Biotechnology and Bioengineering* 90(2):259-269.
- Shahmansouri MR, Taghipour H, Bina B, Movahedian H. 2005. Biological Removal of Ammonia from Contaminated Air Streams Using Biofiltration System. *Iranian Journal of Environmental Health, Science and Engineering* 2(2):17-25.
- Shareefdeen Z, Baltzis BC, Oh Y-S, Bartha R. 1993. Biofiltration of methanol vapor. *Biotechnology and Bioengineering* 41(5):512-524.
- Sheridan B, Curran T, Dodd V, Colligan J. 2002a. Biofiltration of odour and ammonia from a pig unit - A pilot-scale study. *Biosystems Engineering* 82(4):441.
- Sheridan BA, Curran TP, Dodd VA. 2002b. Assessment of the influence of media particle size on the biofiltration of odorous exhaust ventilation air from a piggery facility. *Bioresource Technology* 84(2):129.
- Shinabe K, Oketani S, Ochi T, Kanchanatawee S, Matsumura M. 2000. Characteristics of hydrogen sulfide removal in a carrier-packed biological deodorization system. *Biochemical Engineering Journal* 5(3):209-217.
- Shinabe K, Oketani S, Ochi T, Matsumura M. 1995. Characteristics of hydrogen sulfide removal by *Thiobacillus thiooxidans* KS1 isolated from a carrier-packed biological deodorization system. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 80(6):592-598.
- Shojaosadati SA, Elyasi S. 1999. Removal of hydrogen sulfide by the compost biofilter with sludge of leather industry. *Resources, Conservation and Recycling* 27(1-2):139-144.
- Shrestha NK, Hadano S, Kamachi T, Okura I. 2001. Conversion of ammonia to dinitrogen in wastewater by *Nitrosomonas europaea*. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology* 90(3):221.
- Shrestha NK, Hadano S, Kamachi T, Okura I. 2002. Dinitrogen production from ammonia by *Nitrosomonas europaea*. *Applied Catalysis A: General* 237(1-2):33-39.
- Smeets MAM, Bulting PJ, van Rooden S, Steinmann R, de Ru JA, Ogink NWM, van Thriel C, Dalton PH. 2007. Odor and Irritation Thresholds for Ammonia: A Comparison between Static and Dynamic Olfactometry. *Chemical Senses* 32(1):11-20.
- Smet E, Van Langenhove H. 1998. Abatement of volatile organic sulfur compounds in odorous emissions from the bio-industry. *Biodegradation* 9(3-4):273-284.
- Smet E, Van Langenhove H, Lens P. 1998. Treatment of waste gases contaminated with odorous sulfur compounds. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 28(1):89-117.
- Smet E, Van Langenhove H, Maes K. 2000. Abatement of high concentrated ammonia loaded waste gases in compost biofilters. *Water, Air, and Soil Pollution* 119(1-4):177-190.
- Smidsrod O, Skjak-Braek G. 1990. Alginate as immobilization matrix for cells. *Trends in Biotechnology* 8(3):71.
- Sorokin DY, Foti M, Tindall BJ, Muyzer G. 2007. *Desulfurispirillum alkaliphilum* gen. nov. sp. nov., a novel obligately anaerobic sulfur- and dissimilatory nitrate-reducing bacterium from a full-scale sulfide-removing bioreactor. *Extremophiles* 11(2):363.
- Stein LY, Arp DJ. 1998a. Ammonium limitation results in the loss of ammonia oxidizing activity in *Nitrosomonas europaea*. *Applied and Environmental Microbiology* 64(4):1514-1521.
- Stein LY, Arp DJ. 1998b. Loss of ammonia monooxygenase activity in *Nitrosomonas europaea* upon exposure to nitrite. *Applied and Environmental Microbiology* 64(10):4098-4102.

- Stepanov AL, Korpela TK. 1997. Microbial basis for the biotechnological removal of nitrogen oxides from flue gases. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 25(2):97.
- Stetter KO, Fiala G, Huber G, Huber R, Segerer A. 1990. Hyperthermophilic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews* 75(2-3):117-124.
- Streese J, Schlegelmilch M, Heining K, Stegmann R. 2005. A macrokinetic model for dimensioning of biofilters for VOC and odour treatment. *Waste Management (Amsterdam, Netherlands)* 25(9):965-974.
- Sublette KL, Sylvester ND. 1987. Oxidation of hydrogen sulfide by *Thiobacillus denitrificans*: Desulfurization of natural gas. *Biotechnology and Bioengineering* 29(2):249-257.
- Suzuki I, Dular U, Kwok SC. 1974. Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *Journal of Bacteriology* 120(1):556.
- Svendsen K. 2001. The Nordic Expert Group for Criteria Documentation of Health Risks from Chemicals and The Dutch Expert Committee on Occupational Standards. I27. Hydrogen Sulphide. Marklund S, editor.
- Syed M, Soreanu G, Falletta P, Be?land M. 2006. Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes - A review. *Canadian Biosystems Engineering / Le Genie des biosystems au Canada* 48.
- Syed MA, Syed MA, Henshaw PF. 2003. Effect of tube size on performance of a fixed-film tubular bioreactor for conversion of hydrogen sulfide to elemental sulfur. *Effect of Tube Size and Light Source on Performance of a Fixed-film Photobioreactor for Conversion of Hydrogen Sulphur* 37(8):1932.
- Taghipour H, Shahmansoury MR, Bina B, Movahdian H. 2006. Comparison of the biological NH₃ removal characteristics of a three stage biofilter with a one stage biofilter. *International Journal of Environmental Science and Technology* 3(4):417-424.
- Tanji Y, Kanagawa T, Mikami E. 1989. Removal of dimethyl sulfide, methyl mercaptan, and hydrogen sulfide by immobilized *Thiobacillus thioparus* TK-m. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 67(4):280-285.
- Vadivelu VM, Keller J, Yuan Z. 2006. Stoichiometric and kinetic characterisation of *Nitrosomonas* sp. in mixed culture by decoupling the growth and energy generation processes. *Journal of Biotechnology* 126(3):342.
- Vairavamurthy A, Manowitz B, Luther GW, III, Jeon Y. 1993. Oxidation state of sulfur in thiosulfate and implications for anaerobic energy metabolism. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57(7):1619-23.
- Van Durme GP, McNamara BF, McGinley CM. 1992. Bench-scale removal of odor and volatile organic compounds at a composting facility. *Water Environment Research* 64(1):19.
- van Ginkel CG, Tramper J, Luyben KCAM, Klapwijk A. 1983. Characterization of *Nitrosomonas europaea* immobilized in calcium alginate. *Enzyme and Microbial Technology* 5(4):297-303.
- Van Groenestijn JW, Hesselink PGM. 1993. Biotechniques for air pollution control. *Biodegradation* 4(4):283-301.
- Van Groenestijn JW, Kraakman NJR. 2005. Recent developments in biological waste gas purification in Europe. *Chemical Engineering Journal* 113(2-3):85-91.
- Van de Velde F, D. Lourenço N, M. Pinheiro H, Bakker M. 2002. Carrageenan: A Food-Grade and Biocompatible Support for Immobilisation Techniques. *Advanced Synthesis & Catalysis* 344(8):815-835.

-
- Varesche MB, Zaiat M, Vieira LGT, Vazoller RF, Foresti E. 1997. Microbial colonization of polyurethane foam matrixes in horizontal-flow anaerobic immobilized-sludge reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology* 48(4):534-538.
- Wani AH, Branion RMR, Lau AK. 1998. Effects of periods of starvation and fluctuating hydrogen sulfide concentration on biofilter dynamics and performance. *Journal of Hazardous Materials* 60(3):287-303.
- Wani AH, Lau AK, Branion RMR. 1999. Biofiltration control of pulping odors - hydrogen sulfide: performance, macrokinetics and coexistence effects of organo-sulfur species. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 74(1):9-16.
- Wark K, Warner CF, Davis WT. 2004. Contaminación del Aire. Origen y control: Prentice Hall.
- Wijffels RH, Schepers AW, Smit M, De Gooijer CD, Tramper J. 1994. Effect of initial biomass concentration on the growth of immobilized *Nitrosomonas europaea*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 42(1):153.
- Wijffels RH, Tramper J. 1989. Performance of growing *Nitrosomonas europaea* cells immobilized in k-carrageenan. *Applied Microbiology and Biotechnology* 32(1):108-12.
- Wiley-VCH, editor. 2002. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Sixth Edition.
- Williams TO, Miller FC. 1992. Odor control using biofilters. *Biocycle* 33(10):72.
- Wood PM. 1986. Nitrification as a bacterial energy source. *Nitrification*:39.
- Wrage N, Velthof GL, Oenema O, Laanbroek HJ. 2004. Acetylene and oxygen as inhibitors of nitrous oxide production in *Nitrosomonas europaea* and *Nitrosospira briensis*: a cautionary tale. *FEMS Microbiology Ecology* 47(1):13-18.
- Wu L, Loo Y-Y, Koe LCC. 2001. A pilot study of a biotrickling filter for the treatment of odorous sewage air. *Water Science and Technology* 44(9):295-299.
- Yang Y, Allen ER. 1994a. Biofiltration control of hydrogen sulfide. 1. Design and operational parameters. *Air & Waste* 44(7):863-8.
- Yang Y, Allen ER. 1994b. Biofiltration control of hydrogen sulfide. 2. Kinetics, biofilter performance, and maintenance. *Air & Waste* 44(11):1315-21.
- Yani M, Hirai M, Shoda M. 1998a. Ammonia gas removal characteristics using biofilter with activated carbon fiber as a carrier. *Environmental Technology* 19(7):709-715.
- Yani M, Hirai M, Shoda M. 1998b. Removal kinetics of ammonia by peat biofilter seeded with night soil sludge. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 85(5):502.
- Zhang L, Hirai M, Shoda M. 1991. Removal characteristics of dimethyl sulfide, methanethiol and hydrogen sulfide by *Hyphomicrobium* sp. I55 isolated from peat biofilter. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 72(5):392-396.
-

